

Aus der

Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Thomas Volk

**Darstellung von zwei Messaufbauten zur Optimierung des endogenen  
volatilen organischen Komponenten-Nachweises in der Expirationsluft mit  
Hilfe der Ionenmobilitätsspektrometrie**

*Dissertation*

*zur*

*Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin*

*der Medizinischen Fakultät*

der Universität des Saarlandes

2019

vorgelegt von:

Bettina Margarete Ludwig geb. Rittershofer

geboren am 07.06.1989 in Homburg/Saar

Dekan

Professor. Dr. med. M Menger

Berichterstatter

Professor Dr. med. S Kreuer

Professor Dr. med B Schick

Tag der Disputation

18.November 2019

## **Inhaltsverzeichnis**

1. Zusammenfassung .....	1
1.1. Summary .....	3
2. Einleitung .....	5
2.1. Atemanalyse .....	5
2.2. Flüchtige organische Stoffe der Ausatemluft .....	5
2.2.1. Die wichtigsten flüchtigen organischen Stoffe im menschlichen Körper .....	7
2.2.1.1. Aceton (Ketone) .....	7
2.2.1.2. Kohlenwasserstoffe .....	8
2.2.1.2.1. Isopren (Terpene) .....	8
2.2.1.2.2. Alkane .....	8
2.2.1.3. Ethanol, Methanol, Propanol .....	9
2.2.1.4. Aldehyde .....	9
2.2.1.5 Organische Sulfide und stickstoffhaltige Verbindungen .....	10
2.3. Ionenmobilitätsspektrometrie (IMS) .....	10
2.4. Die Entwicklung der Ionenmobilitätsspektrometrie .....	11
2.5. Funktion des Multikapillar-Ionenmobilitätsspektrometer und des Spirometers .....	11
2.5.1. Multikapillarsäule (MCC) .....	12
2.5.2. Ionenmobilitätsspektrometer (IMS) .....	12
2.5.2.1. Ionisationsregion .....	12
2.5.2.2. Driftregion .....	13
2.5.2.3. Detektionsregion .....	13
2.5.3. Spirometer .....	15
2.6. Problematik der Analytzuordnung .....	15
2.7. Unterscheidung der exogenen und endogenen VOCs durch Differenzierung der Probeentnahmen .....	16
2.8. Minimierung des Störfaktors Raumluft während einer Probeentnahme .....	16
2.9. Fragestellung .....	17
3. Material und Methodik .....	19
3.1. Multikapillarsäulen-Ionenmobilitätsspektrometer Einstellung und Parameter .....	19
3.1.1. Multikapillarsäulen-Ionenmobilitätsspektrometer .....	19

3.1.1.1. Multikapillarsäule.....	19
3.1.1.2. Ionenmobilitätsspektrometer.....	20
3.1.2. Spirometrie .....	22
3.2. Daten-Analyse.....	22
3.2.1. VisualNow.....	22
3.2.2. BS-MCC/IMS-Databank und MIMA Software .....	23
3.3. Probanden beider Messreihen.....	23
3.4. Messaufbau, Messablauf und Auswertung .....	23
3.4.1. Messaufbau, Messablauf und Auswertung der endtidalen und tidalen VOC- Bestimmung .....	23
3.4.1.1. Messaufbau zur Bestimmung der endtidalen und tidalen VOCs .....	23
3.4.1.2. Messablauf zur Bestimmung der endtidalen und tidalen VOCs durch eine manuell-gesteuerte und Spirometrie-gesteuerte Probeentnahme .....	24
3.4.1.3. Einteilung der VOCs der tidalen und endtidalen Probeentnahme anhand eines Intensitätsverhältnis .....	26
3.4.2. Messaufbau, Messablauf und Auswertung zur Messreihe "Reduzierung der Raumluft-VOCs" .....	27
3.4.2.1. Messaufbau zur Messreihe "Reduzierung der Raumluft-VOCs".....	27
3.4.2.2. Messablauf zur Messreihe "Reduzierung der Raumluft-VOCs" .....	27
2.4.2.3. Einteilung der VOCS der Messung " Reduzierung der Raumluft-VOCs" anhand ihres Intensitätsverlaufes .....	29
3.5. Auswertung der Daten aller Messreihen .....	29
3.5.1. Statistik.....	30
4. Ergebnisse .....	31
4.1. Ergebnisse der tidalen und endtidalen Probeentnahmen .....	31
4.1.1. Auswertung der Chromatogramme der endtidalen und tidalen Probeentnahme.....	32
4.1.2.1. Zuordnung der tidal gemessenen und endtidal gemessenen VOCs zu einem Ursprung.....	36
4.2. Ergebnisse der Messreihe „Reduzierung der Raumluft VOCs“ .....	38
4.2.1. Auswertung der Chromatogramme der Messreihe "Reduzierung der Raumluft- VOCs" .....	39
4.2.2. Einteilung der VOCs der Messreihe "Reduzierung der Raumluft- VOCs" .....	43

4.2.2.1. Gruppe 1 .....	44
4.2.2.2. Gruppe 2 .....	46
4.2.2.3. Gruppe 3 .....	47
4.2.2.4. Gruppe 4 .....	48
4.2.2.5. Gruppe 5 .....	49
4.2.2.6. Nicht zuordbare VOCs .....	50
4.2.3. Berechnung eines endtidalen/tidalen Verhältnisses der VOCs der Messreihe "Reduzierung der Raumluft-VOCs" .....	51
5. Diskussion .....	56
5.1. Gegenüberstellung der Messreihen .....	67
5.2. Schlussfolgerung .....	69
6. Literaturverzeichnis .....	71
7. Publikationsverzeichnis .....	78
8. Danksagung .....	79
9. Anhang .....	80
9.1. Gruppe 1 .....	80
9.2. Gruppe 2 .....	85
9.3. Gruppe 3 .....	94
9.4. Gruppe 4 .....	97
9.5. Gruppe 5 .....	106
9.6. nicht zuordbare Peaks .....	110

<b>Abbildung 1</b> Funktionseinheiten des Ionenmobilitätsspektrometers (Cumeras et al. 2015)	14
<b>Abbildung 2</b> Darstellung aller drei zu messenden Größen (Retentionszeit, Ionenmobilität, Intensität) an einem 3D-Chromatogram am Beispiel Aceton	14
<b>Abbildung 3</b> Schematische Darstellung des ultraschallgestützten Spirometers (Ganshorn 2016)	15
<b>Abbildung 4</b> Schematische Abbildung des Querschnitts einer MCC nach (Multichrom Ltd 2009)	19
<b>Abbildung 5</b> Messaufbau tidale- und endtidale VOC-Bestimmung. Probeschenkel blau: Bestimmung der endtidalen VOCs mittels einer durch Spirometrie gesteuerten Probeentnahme; Probeschenkel rot: Bestimmung der tidalen VOCs durch eine manuell gesteuerte Probeentnahme	24
<b>Abbildung 6</b> Zeitliche Messschemata der tidalen und endtidalen Messung: Der rote Balken zeigt die Messzeit der tidalen Probeentnahme. Gleichzeitig wurde die endtidale Probeentnahme(blau) gestartet	25
<b>Abbildung 7</b> Abfolge der einzelnen Messungen der tidalen und endtidalen Probeentnahme, 1. Raumluftanalyse für 10 und 4 Sekunden, 2. Dreimal gleichzeitig ablaufende Probeentnahmen sowohl tidal (manuell gesteuert über 4 Sekunden), als auch endtidal (über Spirometrie gesteuert für 10 Sekunden)	26
<b>Abbildung 8</b> Messaufbau der Messreihe "Reduzierung der Raumluft-VOCs"; MCC/IMS: Multi-Kapillar Ionen-Mobilitäts-Spektrometer; m: Maske; p: Proband; Hv: Heimlichventil	27
<b>Abbildung 9</b> Abfolge der einzelnen Messungen der Messreihe "Reduzierung der Raumluft-VOCs", 1. Raumluftanalyse, 2. SpiroScout-Messung (endtidal) 3. alle 5 Minuten eine Probeentnahme zuerst unter Raumluftatmung und direkt danach unter Atmung von synthetischer Luft, 4. Probeentnahme der verwendeten CPAP-Maske	29
<b>Abbildung 10</b> Intensitäten aller 33 VOCs der endtidalen (blau) und tidalen (rot) Probeentnahmen ( $\pm 95\%$ Konfidenzintervall des Mittelwerts; $p \leq 0,05$ )	34
<b>Abbildung 11</b> Häufigkeit der Raumluft-VOCs in der Ausatmung	39
<b>Abbildung 12</b> Das linke Chromatogramm zeigt die erste Messung bei der der Proband die Maske trägt und Raumluft atmet. Das rechte Chromatogramm zeigt die Messung nach 30 minütiger Atmung von synthetischer Luft. Der markierte VOC ist Menthol M	42
<b>Abbildung 13</b> Zeitlicher Verlauf des VOCs Menthol M während der gesamten Messung. RL=Raumluft, SpSc=SpiroScout, M=Maskenmessung	43
<b>Abbildung 14</b> Mittlere Reduktion der VOCs 1-39 nach 30 minütiger Atmung von synthetischer Luft verglichen mit der Anfangsintensität vor der Gabe von synthetischer Luft. Ein VOC wurde signifikant(*) reduziert, wenn $p < 0,05$ . Die Signifikanz wurde mit einem t-	

Test bestimmt. ( $\pm 95\%$  Konfidenzintervall des Mittelwerts). Mittlere Anreicherung der VOCs 40-68 (keine Signifikanzen!) .....43

**Abbildung 15** Intensitätsverlauf der Gruppe 1 am Beispiel Decanal. Der schwarze Verlauf stellt den Intensitätsverlauf des VOCs unter Raumlufbedingungen dar. Der rote Verlauf stellt die Intensitäten des VOCs unter Zufuhr von synthetischer Luft dar. ( $\pm 95\%$  Konfidenzintervall des Mittelwerts;  $p \leq 0,05$ ) .....45

**Abbildung 16** Intensitätsverlauf der Gruppe 2 am Beispiel 2-Ethyl-Capronaldehyd. Der schwarze Verlauf stellt die Intensität des VOCs unter Raumlufbedingungen dar. Der rote Verlauf stellt die Intensität des VOCs unter Zufuhr von synthetischer Luft dar. ( $\pm 95\%$  Konfidenzintervall des Mittelwerts;  $p \leq 0,05$ ) .....46

**Abbildung 17** Intensitätsverlauf der Gruppe 3 am Beispiel 4-Ethyltuluol. Der schwarze Verlauf stellt die Intensität des VOCs unter Raumlufbedingungen dar. Der rote Verlauf stellt die Intensität des VOCs unter Zufuhr von synthetischer Luft dar. ( $\pm 95\%$  Konfidenzintervall des Mittelwerts;  $p \leq 0,05$ ) .....47

**Abbildung 18** Intensitätsverlauf der Gruppe 4 am Beispiel Aceton. Der schwarze Verlauf stellt die Intensität des VOCs unter Raumlufbedingungen dar. Der rote Verlauf stellt die Intensität des VOCs unter Zufuhr von synthetischer Luft dar. ( $\pm 95\%$  Konfidenzintervall des Mittelwerts;  $p \leq 0,05$ ) .....49

**Abbildung 19** Intensitätsverlauf der Gruppe 5 am Beispiel Menthol M. Der schwarze Verlauf stellt die Intensität des VOCs unter Raumlufbedingungen dar. Der rote Verlauf stellt die Intensität des VOCs unter Zufuhr von synthetischer Luft dar. ( $\pm 95\%$  Konfidenzintervall des Mittelwertes;  $p \leq 0,05$ ) .....50

**Abbildung 20** Intensitätsverlauf der VOCs die, anhand ihres Verlaufes, nicht einer anderen Gruppe zugewiesen am Beispiel cis-4-tert-Butylcyclohexylacetat. Der schwarze Verlauf stellt die Intensität des VOCs ohne die Gabe von synthetische Luft dar. Der rote Verlauf stellt die Intensität des VOCs unter Zufuhr von synthetischer Luft dar. ( $\pm 95\%$  Konfidenzintervall des Mittelwerts;  $p \leq 0,05$ ) .....51

<b>Tabelle 1</b> Einteilung der VOC nach der Weltgesundheitsorganisation nach (Australian Government 2009).....	6
<b>Tabelle 2</b> Betriebseinstellung der MCC Typ OV5 nach Multichrom LTD (Moskau und Novosibirsk, Russia).....	20
<b>Tabelle 3</b> Betriebseinstellung Bioscout 2011 MCC/IMS nach B&S Analytik GmbH (Dortmund, Germany) .....	22
<b>Tabelle 4</b> Probanden der tidalen und endtidalen Probeentnahme und ihre demographische Daten.....	31
<b>Tabelle 5</b> Gesamtheit der Raumluft-VOCs und der Atemluft-VOCs aus den tidalen und endtidalen Probeentnahmen sortiert nach ihrer Retentionszeit mit Retentionszeit (RT), Ionenmobilität (1/K0) und Chemical Abstract Service (CAS)-Nummer .....	33
<b>Tabelle 6</b> Gesamtheit der Mittelwerte aus den 33 tidalen (rot) VOC-Intensitäten und den 33 endtidalen (blau) VOC-Intensitäten nach jeweils dreifacher Messung je Proband über ein Untersuchungskollektiv von 20 Probanden .....	35
<b>Tabelle 7</b> Quotient der gemittelten 33 VOC-Intensitäten aus endtidal zu tidal aufsteigend sortiert .....	37
<b>Tabelle 8</b> Probanden der Messreihe "Reduzierung der Raumluft-VOCs " mit demographischen Daten.....	38
<b>Tabelle 9</b> Raumluft-VOCs der Messreihe "Reduzierung der Raumluft-VOCs" mit Retentionszeit (RT), Ionenmobilität (1/K0), CAS- Nummer .....	41
<b>Tabelle 10</b> Alle VOCs der Messreihe "Reduzierung der Raumluft-VOCs" aufgelistet nach der Reduktion ihrer Intensität während der Messung mit den dazugehörigen p-Werten (schwarz: t-Test, rot: Wilcoxon-Mann-Withney-Test). 7 VOCs werden signifikant reduziert (lila hinterlegt), 32 VOCs werden reduziert (grau hinterlegt), 29 VOCs zeigen Intensitätszunahme (grün hinterlegt).....	53
<b>Tabelle 11</b> Alle 68 Raumluft-VOCs mit den jeweiligen Quotienten , die sich aus dem Mittelwerten der Intensitäten der Spirometriemessung und den mittleren Intensitäten bei 30 min Raumluft-Atmung über Maske errechnen. Ein Quotient > 1,5 spricht für einen endogenen VOC. Ein Wert <1,5 spricht für einen Raumluft-VOC. Zuordnung der VOCs zu den einzelnen Gruppen mit spezifischem Auswaschverhalten. ....	55



## Abkürzungsverzeichnis

•

°C..... Grad Celcius

### **$\mu$**

$\mu\text{m}$ ..... Mikrometer

$\mu\text{s}$ ..... Mikrosekunden

### ***I***

1/KO .....inverse Ionenmobilität

### ***C***

CAS-Nummer .....Chemical Abstracts Service

cm.....Zentimeter

COPD..... Chronisch obstruktive Lungenerkrankung

### ***K***

kg.....Kilogramm

KG ..... Körpergewicht

### ***M***

m ..... Meter

max. .... maximal

MBq.....Megabecquerel

MCC/IMS .....Mulitkapillarsäulen-Ionenmobilitätsspektrometer

min..... Minuten

ml.....Milliliter

### ***N***

nm..... Nanometer

### ***P***

ppbv ..... parts per billion by volume

ppmv .....parts per million by volume

### ***R***

RT..... Retentionszeit in Millisekunden

### ***U***

u.E.....unseres Erachtens

UV ..... Ultraviolettstrahlung

### ***V***

V ..... Volt

v.H. .... von Hundert

VOCs ..... Flüchtige organische Stoffe

Vol-% ..... Volumenprozent

## **W**

WHO ..... World Health Organisation

## **1. Zusammenfassung**

Die Ionenmobilitätsspektrometrie (IMS) in Verbindung mit einer Multikapillarsäule (MCC) stellt eine hochsensitive Technologie für den Nachweis von flüchtigen organischen Verbindungen (VOCs) dar. Für die Medizin eröffnet sich mit ihr die Perspektive, VOCs zu identifizieren, die als Biomarker für Krankheitsentitäten stehen. Als ein leicht zugängliches Explorationsmedium steht die Ausatemluft mit den darin enthaltenen VOCs (Exhalom) im Fokus. Das Exhalom setzt sich aus einer Vielzahl von VOCs zusammen. Ein Teil entstammt körpereigenen Prozessen, ein anderer Teil wird von außen als körperfremde Substanzen über Lunge, Haut und Magen-Darm-Trakt in den Organismus aufgenommen. Für den größten Teil des Exhaloms ist die Frage, welche VOCs körpereigenen Ursprungs sind und damit endogene Prozesse des Organismus widerspiegeln, noch unbeantwortet.

Die vorliegende Studie macht den Versuch, Modalitäten zu finden, die eine Differenzierung zwischen VOCs endogenen und VOCs exogenen Ursprungs erlauben. Hierzu erfolgten zwei Versuchsaufbauten:

1. Versuchsaufbau: Bei 20 gesunden Probanden wurde das Ausatemungsvolumen getrennt in einen tidalen und einen endtidalen Anteil jeweils einem eigenen MCC/IMS- Gerät zur Messung der VOC-Intensitäten zugeführt. Die Arbeitshypothese für dieses Vorgehen lautete, dass in der endtidalen Phase höher gemessene VOC-Intensitäten dafür stehen, dass diese VOCs einen endogenen Ursprung haben. Als Annahme sollte gelten, dass endogene VOCs im Blut, an der Blut-Alveolarschranke und in der Alveole in höherer Konzentration vorliegen als dies für exogene VOCs anzunehmen ist. Die dort vorliegende VOC-Konzentration kann man mit einer nicht invasiven Messung am ehesten im endtidalen Volumen bestimmen. Die gemessenen Intensitäten für jeden einzelnen detektierten VOC in der tidalen und endtidalen Phase wurden in ihren Mittelwerten miteinander verglichen und auf eine signifikante Gesetzmäßigkeit hin überprüft. Für keinen der detektierten VOCs ließ sich hierbei eine statistische Signifikanz hinsichtlich der Intensitätsunterschiede zwischen den beiden Phasen der Expiration nachweisen. Eine Zuordnung der VOCs auf der Basis dieses Versuchsaufbaus ist damit nicht möglich.

Informativere Ergebnisse liefert die Quotientenbildung aus endtidalen zu tidalen Intensitäten der einzelnen VOCs. Mit der Größe dieses Quotienten ist tendenziell, aber nicht valide eine Aussage zum Ursprung eines detektierten VOC möglich. Ein Quotient größer 1,5 spricht für einen endogenen VOC und umgekehrt der Quotient kleiner 1,5 für einen VOC exogenen

Ursprungs. Weitgehend bestätigt wird diese Aussage bei Betrachtung der VOCs, deren Ursprung als bekannt gilt.

2.Versuchsaufbau: Da sich mit dem ersten Versuchsaufbau keine validen Aussagen zum Ursprung detektierter VOCs im Exhalom treffen lassen, wurden in einem zweiten Versuchsaufbau bei 20 gesunden Probanden die VOC-Intensitäten im Expirationsvolumen unter Atmung von synthetischer Luft (Air Liquide, Synthetische Luft SCIENTIFIC) verglichen mit den Intensitäten bei Atmung von Raumluft. Die Atmung erfolgte jeweils über Maske und Nichtrückatemventil mit Intensitätsmessungen in 5-minütigen Abständen über eine Dauer von 30 Minuten. Als Arbeitshypothese wurde formuliert, dass exogene VOCs sich unter Atmung von synthetischer Luft in ihren Intensitäten über die Dauer der Messung reduzieren lassen und somit ein anderes Verhalten aufweisen als unter Raumluftatmung bei ansonsten gleichen Bedingungen. Von 68 detektierten VOCs wurden 39 VOCs reduziert, während 29 VOCs angereichert wurden. Für 7 VOCs konnte statistisch signifikant eine Reduzierung ermittelt werden, während für die angereicherten VOCs keine Signifikanzen festgestellt wurden. VOCs mit ähnlichem Verhalten über die Messdauer wurden zu einer Gruppe zusammengefasst. 5 VOC-Gruppen mit einem jeweils eigenen charakteristischen Profil konnten unterschieden werden. Eine Gruppe war gekennzeichnet durch kontinuierliche VOC-Reduzierung unter Raumluftatmung wie unter Atmung von synthetischer Luft über den gesamten Messzeitraum. Die Intensitätsunterschiede zwischen beiden Messphasen erwiesen sich als statistisch signifikant (Gruppe 1). Eine weitere Gruppe bewahrte - nach einer anfänglich deutlichen Reduzierung- ein auf niedrigerem Level kontinuierlich stabiles Intensitätsniveau (Gruppe 5). Keine Veränderungen zeigte eine dritte Gruppe (Gruppe 3). Ebenfalls kontinuierlich stabile Intensitäten zeigten zwei Gruppen, die sich in den als Referenzwerten gemessenen Intensitäten der VOCs des Untersuchungsraumes unterschieden (Gruppen 2 und 4). Die Recherche der von den VOCs repräsentierten chemischen Substanzen weist einen Großteil als körperfremde exogene Produkte der chemischen Industrie und der Umwelt aus. Die Zuteilung dieser exogenen VOCs zu Gruppen mit differenten Auswaschprofilen zeigt die Komplexität des Exhaloms. Im Hinblick auf die endogenen körpereigenen Substanzen stellt sich daraus die Forderung, umfangreichere Kenntnisse über VOCs im Rahmen der Metabolomforschung zu gewinnen.

## 1.1. Summary

Ion-Mobility-Spectrometry in combination with a multi-capillary column is a highly sensitive technology for the identification of volatile organic compounds (VOCS). Especially for the sector of medicine it opens a new perspective within the context of diagnostics and assessment of the course of disease. The exhalation air including its VOCs (exhalome) offers easy access for explorational purposes. The exhalome is made up of a large variety of different VOCs. One part of the exhalome derives from endogenous VOCs, another part comes from exogenous substances which are absorbed by the lung, the skin or the digestive system. However, the question remains: which of the VOCs are endogenous and thereby reflect the metabolic process.

The present study is an attempt to find modalities which allow a distinction between endogenous and exogenous VOCs. For this purpose, two investigations were evaluated regarding the best strategy of how to detect endogenous VOCs.

1. Experimental setup: a breath-sample was conducted by 20 healthy subjects. In order to gain the endtidal and tidal part of the exhalome the breath sample was measured separately with an MCC/IMS, respectively. A high intensity in the endtidal phase of the breath sample stands for an endogenous VOC. Assuming that endogenous VOCs are more likely to have a high intensity near the alveoli, the blood and the blood alveolar barrier, the easiest way to approximate the endogenous VOCs' concentration in a non-invasive way is determining the endtidal volume. Each measured VOC intensity was compared to its average value in the endtidal and tidal phase- and significance tests were undertaken to assess the statistical significance. The detected VOCs did not reach statistical significance. According to the first experimental setup a VOCs' classification to an endogenous or exogenous origin is not possible.

A quotient of the VOCs' endtidal and tidal intensities delivers more informative results. A quotient higher than 1,5 indicates an endogenous VOC, in reverse a quotient smaller than 1,5 is more likely to be an exogenous VOC. However, creating these quotients pose a tendency but cannot be considered valid. This assertion is confirmed regarding the VOCs whose origins are already known.

2. Experimental setup: since the first setup could not give a sufficiently valid statement of the origin of the detected VOCs, a second setup was carried out. The reduction of the initial ambient air VOC intensity was investigated in the breath of 20 volunteers inhaling synthetic air in comparison to inhaling ambient air.

The measurements were executed with a volunteer wearing a continuous positive airway pressure mask with a self-designed non-return valve. The volunteer breathed spontaneously under the mask for 30 minutes. Every 5 minutes a breath sampling was performed. It was assumed that exogenous VOCs are reduced by breathing synthetical air over the course of the measurement and therefore under the same conditions behave differently while breathing ambient air.

Out of 68 detected VOCs 39 were reduced, whereas 29 VOCs increased their intensity in comparison to inhaling ambient air. In total, 7 VOCs were reduced to a statistically significant extent.

VOCs with a similar time course pattern over the duration of the measurements were summarized. Five different types, with similar characteristics were distinguished.

Type 1 is characterized by the measurement period showing a decrease while breathing ambient air or breathing synthetic air, whereas the synthetic air curve generally shows statistically significant lower values. Type 2 shows resemblances in both curves and continuous stable intensities. Type 3 is present in both measurement periods on a similar level. Type 4 shows the same characteristics as type 2. The intensity during the measurement of type 5 decreases immediately after breathing synthetic air and remains at a similarly low level during that time period.

Regarding the chemical agents represented by the VOCs, it can be said that the biggest part is claimed to be an exogenous product of the chemical industry or the environment. The classification of these exogenous VOCs to different types of elution shows the exhalom's complexity. Due to this a more extensive knowledge in the context of the research of the endogenous VOCs has to be acquired

## **2. Einleitung**

### **2.1. Atemanalyse**

Analytische Untersuchungen des menschlichen Atems (Exhalom) auf leichtflüchtige organische Substanzen (VOC- volatile organic compounds) als physiologische und pathophysiologische Parameter haben das Potential, der Medizin neue diagnostische Möglichkeiten zur Erkennung von Erkrankungen und zur Beurteilung ihres Verlaufs zu eröffnen.

Seit durch Atemanalytik Krankheiten diagnostiziert werden können – als frühe Beispiele seien der H<sub>2</sub>-Atemtest für die Lactoseintoleranz oder der C<sub>13</sub>-Atemtest für den Befall der Magenschleimhaut durch *Helicobacter pylori* genannt - ist manifest, dass die Ausatemluft eines Patienten einen wichtigen diagnostischen Schlüssel darstellen kann, um eine detaillierte und valide Aussage über das Vorliegen einer Erkrankung zu treffen. Die im Exhalom durch moderne analytische Verfahren detektierten Substanzen haben als Einzelsubstanzen, als Profile oder durch ihre Konzentration und Intensität möglicherweise die Qualität von Biomarkern, die eine Krankheitsentität kennzeichnen. Der Vorteil einer modernen Atemanalytik mit validen, qualitätsgesicherten Aussagen läge darin, dass sie nicht invasiv erfolgt und damit für den Patienten – unabhängig von der Schwere seiner Erkrankung sowie seiner Kooperationsfähigkeit- keine wesentliche Belastung darstellt. Für den Kliniker ist der Gesichtspunkt der patientennahen Untersuchung im Sinne einer point-of-care-Untersuchung sowie ihr Einsatz als Screening-Verfahren bei großen Kollektiven von Interesse. Sollte es gelingen, das Exhalom für die Erkennung von definierten Erkrankungen zu nutzen, käme dies einem Paradigmenwechsel für den gesamten Diagnostik- und Gesundheitssektor gleich.

### **2.2. Flüchtige organische Stoffe der Ausatemluft**

Flüchtige organische Stoffe (VOCs) sind kohlenstoffhaltige leicht verdampfbare Stoffe, die in einer Vielzahl als Syntheseprodukte der chemischen Industrie vorliegen sowie als Produkte organischer Prozesse bei Pflanzen und Tieren angetroffen werden. Für die Medizin haben sie Bedeutung als Metabolite komplexer Stoffwechselvorgänge der Organe und Zellen sowie als Abbauprodukte des Organismus in der Auseinandersetzung mit aufgenommenen Substanzen – seien es Medikamente oder pathogene respektive nicht pathogene Erreger. Eine einheitliche Definition der VOCs ist auf Grund ihrer sehr unterschiedlichen chemischen Grundstrukturen nur bedingt zu formulieren. Die World Health Organisation (WHO) wählt als Unterscheidungsmerkmal einen physikalischen Parameter und teilt die VOCs anhand ihres Siedepunktes ein (Tabelle 1).

Beschreibung	Siedebereich
1. Sehr flüchtige organische Stoffe	0 °C-100 °C
2. Flüchtige organische Stoffe	100 °C-260 °C
3. Semi flüchtige organische Stoffe	260°C- 400 °C
4. Partikulär organische Stoffe	

**Tabelle 1** Einteilung der VOC nach der Weltgesundheitsorganisation nach (Australian Government 2009)

Durch das Auftreten und den Nachweis von definierten VOCs bei Krankheiten- wie zum Beispiel beim Lungenkarzinom (Antoniou et al. 2019; Baumbach et al. 2006, 2011; Gordon et al. 1985; Ligor et al. 2009; O'Neill et al. 1988; Rieder et al. 2001), bei der COPD (Phillips et al. 2012), der Tuberkulose (Phillips et al. 2010), der Sarkoidose (Westhoff et al. 2007), des Diabetes mellitus (Diskin et al. 2003; Lindinger et al. 1998b; Phillips et al. 2004; Rabis et al. 2011), des Ösophaguskarzinoms (Kumar et al. 2013), des Kolonkarzinoms (Bond et al. 2019) sowie bei Alzheimer und Parkinson (Tisch et al. 2012) sind die VOCs in den zurückliegenden Jahren zunehmend in das Interesse der klinischen Forschung gerückt, was eine Vielzahl von Studien und Veröffentlichungen zu dieser Thematik unter Beweis stellt.

Jedes Bakterium hat einen eigenen Stoffwechsel mit der Freisetzung charakteristischer VOCs (Kunze et al. 2013; Spanel et al. 2007). Für die häufigsten pathogenen Bakterien im Menschen wie *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* und *Escherichia coli* wurden spezifische VOCs nachgewiesen. Folgende Zuordnungen von VOCs zu Bakterien konnten erfolgen: 2-Methyl-Butanal zu *Staphylococcus aureus*, 2-Butanon und 2,4-Dimethyl-1-Heptan zu *Pseudomonas aeruginosa*, Methanol, Pentanol und Indole zu *Escherichia coli* (Maddula et al. 2009). Auch Hefen und Schimmelpilze wie *Aspergillus* und *Candida*-Stämme (Perl et al. 2011; Ruzsanyi et al. 2003; Vautz et al. 2008) lassen sich an Hand charakteristischer VOCs definieren.

Bei neurologischen Erkrankungen wie der Multiplen Sklerose gelang es, einzelne VOCs in erhöhter Konzentration in der Atemluft zu detektieren: Hexanal und 5-Methyl-Undecan zeigen bei diesem Krankheitsbild deutlich erhöhte Werte (Ionescu et al. 2011).



Die Verlaufsbeobachtung von VOCs während Operationen zur Steuerung von Narkosen oder im Rahmen der postoperativen Therapie auf Intensivstationen könnte für die Richtigkeit oder notwendige Änderungen der Therapie relevant werden. (Amann et al. 2014). Für die Intensivmedizin von großer Bedeutung ist ein schnelles Handeln bei ersten Zeichen einer Sepsis oder bei Eintreten eines Acute Respiratory Distress Syndrom (ARDS). Isopren ist bei dieser Erkrankung ein wegweisender VOC. Ein um 50 Prozent erniedrigtes Isopren spricht für die Ausbildung eines ARDS (Jünger et al. 2012).

Die atemanalytische Detektion von VOCs mit definierten Zuordnungen wäre geeignet, bei routinemäßigen Vorsorge- und Screening-Untersuchungen in großen Kollektiven als ein schnelles, aussagekräftiges und in der praktischen Durchführung einfaches Verfahren implementiert zu werden.

### **2.2.1. Die wichtigsten flüchtigen organischen Stoffe im menschlichen Körper**

Neben seinen Hauptbestandteilen Stickstoff, Sauerstoff, Kohlendioxid, Wasser und inerten Gasen beinhaltet der Atem in Größenordnungen von Nanogramm bis Pikogramm pro Liter – respektive nach parts per million und parts per billion gemessen- ungefähr 500 verschiedene VOCs (Ligor et al. 2008). Bei Untersuchungen von großen Kollektiven gehen die Schätzungen von Größenordnungen bis zu 3000 Verbindungen im menschlichen Atem aus. Am häufigsten treten in der Ausatemluft des Menschen die VOCs Aceton, Methanol, Ethanol, Propanol und Isopren auf (Miekisch et al. 2004). Sofern sie nicht aus der Umwelt vom Organismus aufgenommen werden, entstammen sie endogen den differenten physiologischen wie nicht-physiologischen Stoffwechselprozessen des Körpers und gelangen mit unterschiedlicher zeitlicher Verzögerung via Blut durch Diffusion und in Abhängigkeit ihrer Löslichkeit sowie ihres Dampfdruckes über die Lungenkapillaren in die Alveolen und in das Expirat. Eine Zuordnung der VOCs erfolgt im Wesentlichen zu den folgenden Substanzklassen: Ketone, Alkohole, Aldehyde, Aromaten, Terpene, aliphatische Kohlenwasserstoffe (Alkane, Alkene), Esterverbindungen, organische Sulfide und stickstoffhaltige Verbindungen.

Im Folgenden sollen in kurzer Darstellung einige wichtige Vertreter aus einzelnen Substanzklassen, die häufig bis regelhaft im Exhalom vorkommen und in der VOCs-Analytik von Bedeutung sind, beschrieben werden.

#### **2.2.1.1. Aceton (Ketone)**

Aceton (2-Propanon) ist ein Ketonkörper mit einem charakteristischen, leicht süßlichen Geruch. Der Acetongehalt im Blut steht in direkter Relation zu den Blutzuckerwerten und dem Hungerzustand eines Patienten. Bei dekompensiertem Kohlenhydrat- und enthemmtem

Fettstoffwechsel infolge Insulinmangels fällt in den Zellen vermehrt Acetyl-CoA, das in den Mitochondrien der Hepatozyten weiter zu Ketonen (Acetoacetat,  $\beta$ -Hydroxybutyrat) synthetisiert wird (Miekisch et al. 2004). Ein weiterer, doch weniger bedeutender metabolischer Generierungsweg für Aceton im Organismus ist der Abbau von 2-Propanol (Isopropylalkohol) durch die Alkoholdehydrogenase in der Leber. Über Nieren (Acetonurie), Schweiß und Atem werden die Ketonkörper ausgeschieden. Aceton gehört bereits beim Gesunden zu den VOCs mit der höchsten Konzentration im Exhalom. Der Ketonkörper Cyclo-Hexanon hat sich in chromatographisch durchgeführten Analysen als Biomarker mit hoher Sensivität und Spezifität für das Krankheitsbild der COPD erwiesen (Westhoff et al. 2010).

#### **2.2.1.2. Kohlenwasserstoffe**

##### **2.2.1.2.1. Isopren (Terpene)**

Der häufigste Kohlenwasserstoff in unserer Ausatemluft und - wie Aceton- immer in der Atemluft präsent- ist Isopren (Miekisch et al. 2004). Isopren wird von Pflanzen gebildet und hat neben Methan die höchste Emissionsrate in der Erdatmosphäre. Im menschlichen Organismus entstehen Isoprenoideinheiten endogen als Zwischenprodukte bei der Cholesterinsynthese. Werden die Ausgangssubstanzen HMGCoA (Beta-Hydroxy-Beta-Methylglutaryl-CoA) und Mevalonsäure gehemmt (Reductase-Inhibitoren) fällt Isopren vermindert an; Isopren hat Bedeutung als Verlaufsmarker der Lipidsenkungstherapie. Bei einer Vielzahl von Lungenerkrankungen wie der *Pseudomonas aeruginosa* –Pneumonie, dem ARDS, der cystischen Fibrose (Mukoviszidose der Lunge), den verschiedenen Formen von Asthma und dem Lungenkarzinom erweist sich ein dem Gesunden gegenüber vermindertes Isopren im Exhalom als Biomarker (McGrath et al. 2000; Scholpp et al. 2002). Dagegen ist Isopren bei erhöhter körperlicher Aktivität sowie bei chronischen Erkrankungen der Niere in erhöhter Konzentration nachzuweisen (Hüppe et al. 2019). Körperliche Anstrengung setzt vermehrt gespeichertes Isopren aus den Muskeln bei deren Kontraktion frei. Bei chronischen Nierenerkrankungen geht der Isoprenanstieg mit einem erhöhten Serumcholesterinspiegel einher (Filipiak et al. 2012; Grabowska-Polanowska et al. 2013; Salerno-Kennedy et al. 2005).

##### **2.2.1.2.2. Alkane**

Eines der wichtigsten endogenen Alkane aus Stoffwechselprozessen des Organismus ist Pentan. Es wird ebenso wie Ethan bei der von freien Radikalen abhängigen Peroxidation aus Omega-3-(alpha-Linolsäure) und Omega-6- (Linolsäure, Arachidonsäure) ungesättigten Fettsäuren gebildet, die wesentlicher Bestandteile der Zellmembran sind. (Kneepkens et al. 1994). Im oxidativen Stress mit vermehrtem Anfall reaktiver Sauerstoffverbindungen (ROS, reactive

oxygen species) und der daraus resultierenden Lipidperoxidation mit Abbau der Zellmembran zeigt Pentan eine erhöhte Konzentration im Exhalom. Pentan wird allerdings im Gegensatz zu Ethan in den Fettdepots des Körpers gespeichert, wo es verzögert freigesetzt und deshalb mit zeitlicher Verzögerung zum Ethan im Exhalom nachgewiesen wird (Phillips et al. 1999). Da oxidativer Stress in unterschiedlichster Stärke und Dynamik mit einer Vielzahl von Erkrankungen korreliert, ist dieser gesättigte Kohlenwasserstoff als Biomarker für eine größere Reihe von Krankheitsbildern postuliert worden : Brustkrebs (Hietanen et al. 1994), Abstoßungen von allotransplantierten Herzen (Weitz et al. 1991), akuter Myokardinfarkt (Weitz et al. 1991), Schizophrenie (Phillips et al. 1993) und Rheuma (Humad et al. 1988).

#### ***2.2.1.3. Ethanol, Methanol, Propanol***

Ethanol im Exhalom steht in direkter Korrelation zur mikrobiellen Besiedlung des Darmes, wo durch Gärprozesse Kohlenhydrate unter anoxischen Bedingungen zu Ethanol abgebaut werden. Methanol ist als Abbauprodukt der Pektine ebenfalls auf die bakterielle Darmflora angewiesen. Propanol wird im Organismus als 2-Propanol (Isopropylalkohol, Isopropanol) nachgewiesen. Erhöhte Werte finden sich bei entgleistem Glukosestoffwechsel. Die hier gemessenen Konzentrationen im Exhalom liegen im niedrigen ppb-Bereich im Gegensatz zum Aceton mit Werten im Bereich von ppm (Risby 2006).

#### ***2.2.1.4. Aldehyde***

Aldehyde entstehen biogen durch die Decarboxylierung von Aminosäuren und den daraus gebildeten biogenen Aminen durch oxidative Desaminierung mittels Monoaminoxidasen (MAO). Hierbei fällt auch Ammoniak (NH<sub>3</sub>) als Stoffwechselprodukt an. Proteinreiche Ernährung lässt Ammoniak im Exhalom ansteigen (Smith et al. 1999); für ein ähnliches Verhalten der Aldehyde liegen keine Belege vor. Für die Messungen der beiden wichtigsten Aldehyde in der Atemanalyse - Form- und Acetaldehyd - erweist sich die hohe Konzentration beider Substanzen in der Umwelt und im Besonderen innerhalb des klinischen Bereichs als problematisch. Diese hohe Hintergrundbelastung schränkt ihre Brauchbarkeit als Biomarker deutlich ein. Die C5 bis C10- Aldehyde (Pentanal, Hexanal, Heptanal, Octanal, Decanal) sind in wesentlich geringeren Konzentrationen in der Umgebungsluft vorhanden. Da sie nicht als physiologische Zwischenprodukte des Organismus bekannt sind, könnten sie sich als die geeigneteren Indikatoren für das Vorliegen eines pathophysiologischen Geschehens erweisen (Fuchs et al. 2010).

### **2.2.1.5 Organische Sulfide und stickstoffhaltige Verbindungen**

Als schwefelhaltige organische Verbindungen werden im Exhalom die Thioether Dimethylsulfid ( $\text{H}_3\text{C-S-CH}_3$ ), Dimethyldisulfid ( $\text{H}_3\text{C-S-S-CH}_3$ ) und Ethylmercaptan ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{SH}$ ) detektiert. „Foetor hepaticus“ gründet auf der Ausatmung dieser Substanzen. Ursächlich für ihr Zustandekommen ist der gestörte Stoffwechsel der essentiellen schwefelhaltigen Aminosäure Methionin bei Leberversagen. Die organischen Sulfide sind die „Haupt“-Biomarker des Leberversagens (Das et al. 2016).

Der stickstoffhaltige Ammoniak ( $\text{NH}_3$ ) ist das natürliche Stoffwechselprodukt des Protein- und Nukleinsäuremetabolismus. Ammoniak wird in der Leber zu Harnstoff verstoffwechselt, dessen Ausscheidung über die Nieren erfolgt. Bei Leberversagen und eingeschränkter Nierenfunktion steigen der Ammoniakspiegel im Blut sowie seine im Exhalom gemessenen Werte. Ebenfalls wurden erhöhte Werte für seine stickstoffhaltigen Abkömmlinge Dimethyl- und Trimethylamin in gaschromatographischen Analysen gemessen (Simenhoff et al. 1977).

Die vorgestellten VOCs zeigen nur einen kleinen Ausschnitt aus einer Vielzahl von detektierbaren Analyten mit den verschiedenen technologischen Verfahren; ihr besonderes Merkmal ist, dass ihre Stoffwechselwege hinlänglich bekannt sind. Wie auch unsere Untersuchungen zeigen, ist die größte Anzahl der im Exhalom nachgewiesenen Substanzen hinsichtlich ihres Ursprungs und ihrer Bedeutung im Stoffwechsel des Organismus noch weitgehend unklar. Da das Exhalom maßgeblich vom Metabolom des Organismus, d.h. von der Gesamtheit seiner niedermolekularen Stoffwechselverbindungen bestimmt wird, kommt dessen eingehender Analyse und Erforschung (Metabolomics) eine Schlüsselfunktion für eine kausal fundierte Interpretation des Exhaloms zu.

### **2.3. Ionenmobilitätsspektrometrie (IMS)**

Mit der Ionenmobilitätsspektrometrie in Verbindung mit Multikapillarsäulen ist der Medizin eine analytische Technologie in die Hand gegeben, die im Vergleich mit anderen etablierten Verfahren wie der gaschromatographischen Massenspektrometrie (GCMS) oder der Festphasenmikroextraktion (SPME) sich in vieler Hinsicht als vorteilhaft erweist. Eine Probensammlung und Probenanreicherung sind nicht notwendig. Sie ist ein Online-Verfahren und liefert effiziente Echtzeitwerte. Die Probenfeuchtigkeit hat für die Messgenauigkeit keine Bedeutung. Die Probengewinnung erfolgt nicht invasiv und ist bei kurzer Einarbeitungszeit schnell erlern- und durchführbar. Bei hohen Investitionskosten für das Equipment können die Kosten für das Verbrauchsmaterial niedrig gehalten werden (Ligor et al. 2008). Sowohl für den Patienten als auch für den untersuchenden Arzt ergeben sich hier die Vorteile der

Risikominimierung, der Vermeidung von unangenehmen und belastenden invasiven Untersuchungen verbunden mit einer höheren Akzeptanz von Patientenseite. Ein entscheidender Vorteil der Methode liegt in ihrer hohen Spezifität und Sensibilität für die nachzuweisenden Substanzen. Die Methode erlaubt Quantifizierungen in Größenordnungen von Nano- (ng/l) bis Pikogrammbereiche (pg/l) (Ruzsanyi et al. 2005) respektive die Erfassung von Messgenauigkeiten und Nachweisgrenzen in ppm- bis ppt-Bereichen (Vautz et al. 2009).

#### **2.4. Die Entwicklung der Ionenmobilitätsspektrometrie**

Die Anfänge der Ionenmobilitätsspektrometrie liegen in den 70er Jahren. In dieser Zeit war die Ionenmobilitätsspektrometrie noch wenigen Speziallabors vorbehalten. Die Geräte hatten einen monströsen Umfang von 1,5m x 2m x 2m und ihre Anschaffung war kostspielig (Borsdorf et al. 2011). Der eigentliche Durchbruch erfolgte erst in den frühen 90er Jahren des 20. Jahrhunderts. Entscheidender Schrittmacher und Impulsgeber war die militärische Forschung, die die Ionenmobilitätsspektrometrie als adäquate Methode für den Nachweis von chemischen Kampfmitteln und Sprengstoffen entdeckte und zügig die dazu notwendigen mobilen Geräte zu deren Detektion entwickelte. Je mehr sich militärische Forschung, aber auch Chemie, Medizin und Technologie über die Bedeutung der Ionenmobilitätsspektrometrie für ihre Bereiche klar wurden, umso mehr beschleunigte sich die Entwicklung (Baumbach et al. 1999). In den letzten Jahren wurde an technischen Feinheiten und neuen Entwicklungen gefeilt, so dass als Ergebnis die Ionenmobilitätsspektrometrie heute in vielen Bereichen -von der medizinischen Forschung und Diagnostik, der Überwachung der Umwelt- und Raumluftqualität, der Drogen- und Kampfmitteldetektion sowie bei Prozesskontrollen in der industriellen Fertigung- zum Einsatz kommt (Borsdorf et al. 2011).

#### **2.5. Funktion des Multikapillar-Ionenmobilitätsspektrometers und des Spirometers**

Die Ionenmobilitätsspektrometrie beruht auf der physikalischen Fähigkeit von Ionenquellen Moleküle, die in einem Gemisch als gasförmige VOCs in unterschiedlichster Art der Zusammensetzung und Konzentration vorliegen, zu ionisieren und in einem elektrischen Feld voneinander zu trennen. Jedes Molekül bzw. jeder Analyt wird durch ein ihm eigenes Signal erkannt und charakterisiert, was in der Analyse der dabei ermittelten Chromatogramme, die die bildliche Veranschaulichung der Ionenmobilitätsspektrometrie darstellen, die genaue Differenzierung der Zusammensetzung des Gasgemisches erlaubt.

### **2.5.1. Multikapillarsäule (MCC)**

Bevor die gasförmigen VOCs in der Ionisierungskammer aktiviert werden, erfolgt eine Vortrennung der VOCs durch eine dem Ionenmobilitätsspektrometer vorgeschaltete Multikapillarsäule. Sie besteht aus einer Parallelbündelung von 900-1200 Einzelkapillaren. Die Multikapillarsäulen können stabförmig (20 cm Länge) oder spiralförmig (bis zu 1 m Länge) angeordnet sein. Als stationäre Phase dienen Silikonverbindungen wie zum Beispiel Diphenylsiloxan, Dimethylpolysiloxan und Trifluoropropylsiloxan (Multichrom Ltd 2009). Durch eine chemische Bindung der VOCs an den Siloxanen werden die verschiedenen VOCs in Abhängigkeit ihrer Hydrophilie unterschiedlich lang zurückgehalten; je hydrophober der VOC umso langsamer erfolgt seine Passage durch die Multikapillarsäule. Die Zeit, die ein einzelner VOC für die Durchquerung der Multikapillarsäule benötigt, wird als Retentionszeit bezeichnet (Vautz et al. 2004; Bödeker et al. 2008). Die Retentionszeit ist abhängig von Temperatur, Druck und Länge der Multikapillarsäule. Die Vortrennung der VOCs in der MCC ist wichtig, um eine Clusterbildung innerhalb des IMS zu verhindern; eine Auswertung der Atemgasprobe würde durch eine Überlappung der VOCs erschwert oder gar verhindert (Baumbach 2009).

### **2.5.2. Ionenmobilitätsspektrometer (IMS)**

Das IMS lässt sich in drei funktionelle Bestandteile unterteilen: Die Ionisationsregion, die Driftregion und die Detektionsregion (Abbildung 1).

#### **2.5.2.1. Ionisationsregion**

Nachdem die VOCs die Multikapillarsäule passiert haben, gelangen sie in die Ionisierungskammer des Ionenmobilitätsspektrometer (Vautz et al. 2004). Die Passage der VOCs durch die Multikapillarsäule und das Ionenmobilitätsspektrometer geschieht mit der Hilfe eines Trägergases, das entweder aus Stickstoff oder Luft besteht (Baumbach 2009).

In der Ionisierungskammer werden die einzelnen VOCs aktiviert. Dies geschieht nicht direkt, sondern erfolgt über das Trägergas. Das Trägergas reagiert mit einer Ionierungsquelle über Protonentransfer oder durch Wasserstoffabstraktion und überträgt die Ladung auf die VOCs. Bei diesen Reaktionen entstehen vermehrt negative  $O_2^-$  und positive  $H^+$ -Ionen. Ist ein VOC in geringer Konzentration vertreten, bilden die Ionen Monomere; bei höherer Konzentration erfolgt eine Dimer- oder Trimerbildung. Für die Ionisierung kommen verschiedene Quellen in Frage: Alpha- oder Beta-Strahler, UV-Lampen, Laser oder Elektrospray (Armenta et al. 2011; Baumbach 2009; Stach et al. 2002).

#### **2.5.2.2. Driftregion**

Nach der Aktivierung passieren die ionisierten VOCs ein mechanisch reguliertes Schaltgitter (Stach et al. 2002). Das Schaltgitter besteht aus zwei Einzelgittern, die sich wiederum aus parallel angeordneten Drähten zusammensetzen. Der Öffnungsmechanismus des Schaltgitters ist durch die Ausrichtung des elektrischen Feldes zwischen den Drähten der Einzelgitter reguliert. Ist das elektrische Feld zwischen den Drähten im Lot zu dem elektrischen Feld der Driftregion ausgerichtet, so ist das Schaltgitter geschlossen. Steht das elektrische Feld nicht senkrecht zu dem nachfolgenden elektrischen Feld, kann die Schließung nicht aufrecht erhalten werden und die Ionen passieren das offene Schaltgitter (Chen et al. 2015) und strömen mit dem Trägergas in die Driftregion. In der Driftröhre wird ein elektrisches Feld mit der Hilfe von Spulen erzeugt (Baumbach 2009).

Die Ionen gewinnen durch die Anwesenheit des elektrischen Feldes in der Röhre an Geschwindigkeit; dieses Phänomen wird als Drift bezeichnet. Je stärker das elektrische Feld umso höher ist der Drift eines Ions (Armenta et al. 2011; Baumbach 2009).

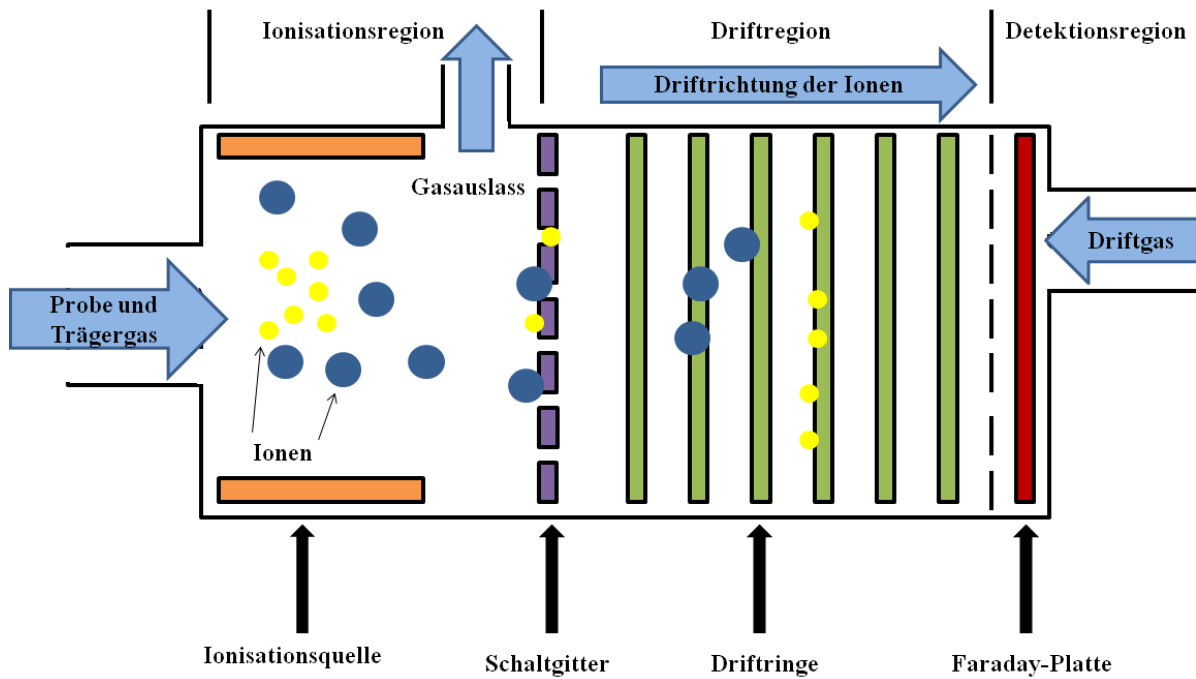
Die Geschwindigkeit der Ionen wird durch das sogenannte Driftgas reguliert. Es fließt von der Faraday'schen Platte, die sich am Ende der Driftröhre befindet, in Richtung der Ionisierungskammer entgegen der Ionenströmung. In Abhängigkeit von ihrer Größe, Ladung und Form werden die Ionen von dem Driftgas abgebremst (Vautz et al. 2006).

#### **2.5.2.3. Detektionsregion**

Nach der Driftregion gelangen die Ionen in die Detektionsregion; sie besteht aus der Faradayschen-Platte. Treffen die Ionen auf den Faradaysche-Platte auf, wird ein elektrisches Signal erzeugt, das durch einen Spannungsumwandler verstärkt wird.

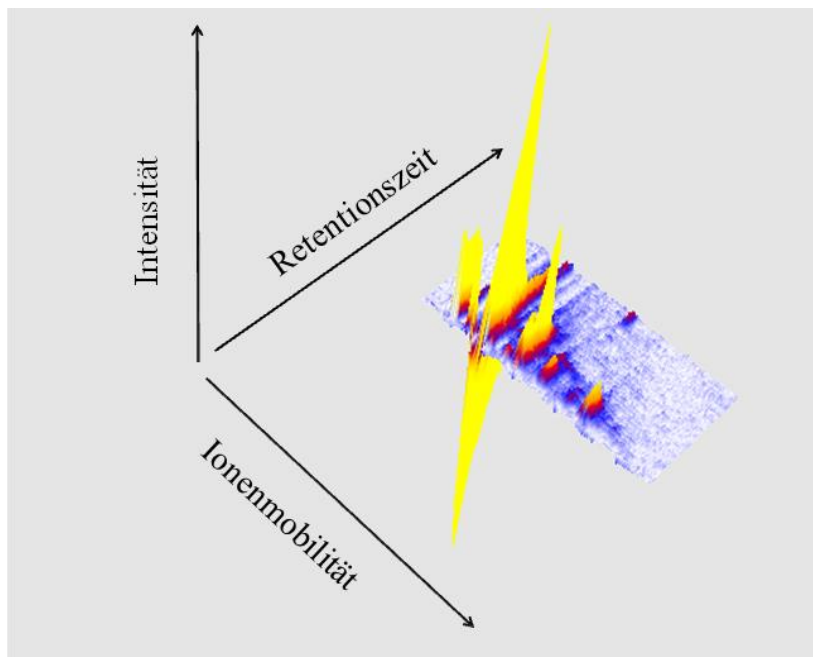
Mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten und mit unterschiedlicher zeitlicher Verzögerung treffen die geladenen Teilchen auf die Faraday'sche Platte.

Die Durchlaufzeit, die die Ionen in einem äußerlich angelegten elektrischen Feld gegen einen definierten Luftstrom des Driftgases brauchen, um von der Ionisierungskammer auf die Faraday'sche Platte zu stoßen, ist als Ionenmobilität definiert. Sie ist für jeden VOC charakteristisch und erlaubt dadurch die genaue Bestimmung des einzelnen VOC (Baumbach 2009).



**Abbildung 1** Funktionseinheiten des Ionenmobilitätsspektrometers (Cumeras et al. 2015)

Die Aufzeichnung der gemessenen Retentionszeit, Signalintensität und der Driftzeit ergibt in einem Koordinatensystem das Ionenmobilitätsspektrum (Abbildung 2).



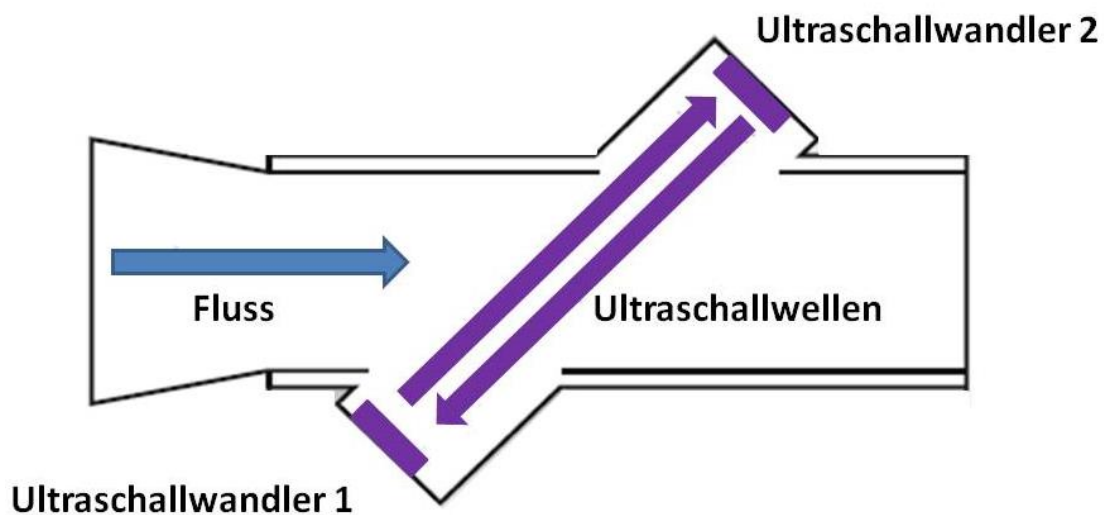
**Abbildung 2** Darstellung aller drei zu messenden Größen (Retentionszeit, Ionenmobilität, Intensität) an einem 3D-Chromatogram am Beispiel Aceton



### 2.5.3. Spirometer

Um Messungen mit der Ionenmobilitätsspektrometrie am Patienten praktikabel zu gestalten, wird an das MCC/IMS ein Spirometer angeschlossen. Die Verbindung erfolgt über den Probennahmeschlauch.

Das Spirometer arbeitet nach dem Prinzip der Ultraschall gestützten Spirometrie (Ganshorn 2016). Zwei Schallwandler senden und empfangen abwechselnd Ultraschallwellen. Ohne Atemfluss ist die Laufzeit der Schallwellen in beiden Richtungen gleich. Wird jedoch eine Atemprobe genommen, so ändert sich der Fluss. Eine Schallwelle beschleunigt sich daraufhin und die andere Schallwelle wird gebremst. Je größer die Differenz der Schallwellen ist, umso größer wird der im Spirometer herrschende Fluss. Eine schematische Darstellung des Spirometers gibt die Abbildung 3. Der große Vorteil des Spirometers besteht darin, dass nur Veränderungen des Flusses gemessen werden. Wechselnde Umgebungsbedingungen und die Feuchte des Atems beeinflussen die Messung nicht.



**Abbildung 3** Schematische Darstellung des ultraschallgestützten Spirometers (Ganshorn 2016)

### 2.6. Problematik der Analytzuordnung

Der Nachweis und die Bestimmung eines VOCs als endogenes Produkt des Organismus sind in der Praxis mit einigen Problemen verknüpft. Von den möglichen 500 (Ligor et al. 2008) ausgeatmeten VOCs im Exhalat größerer untersuchter Kollektive ist ein Teil unbekannter Größe nicht ein Produkt des Organismus, sondern entstammt körperfremden Quellen (ambient air). Die Zusammensetzung der Umgebungsluft bestimmt maßgeblich Anzahl und Spektrum der detektierten VOCs im Exhalat. In dieser Abhängigkeit können Größenordnungen von bis zu 3000 VOCs in Proben gemessen werden. (Phillips et al. 1999).

Durch die Sensibilität des MCC/ IMS werden VOCs in der Atemluft identifiziert ohne Differenzierung hinsichtlich ihres Ursprungs. Für die medizinische Diagnostik stehen die körpereigenen endogenen VOCs aus den physiologischen und pathophysiologischen Prozessen des Organismus im Fokus des Interesses. Um diese näher einzugrenzen bedarf es auf der Grundlage der MCC/IMS-Technologie neuer modifizierter Herangehensweisen an die Messabläufe und Messpunkte in der Expiration.

## **2.7. Unterscheidung der exogenen und endogenen VOCs durch Differenzierung der Probeentnahmen**

Um die VOCs bei einer Probeentnahme exakter ihrem Ursprungsort- endogen respektive exogen- zuzuordnen, wird ein Weg beschritten, der die Expirationsphase für die Messung in einen tidalen und in einen endtidalen Volumenanteil differenziert.

Der tidale Volumenanteil bezeichnet das normale Atemhubvolumen, das während eines Atemzuges ein- und ausgeatmet wird, ohne dass zusätzliche Atemkraft aufgebracht wird. Bei einem jungen gesunden Menschen hat das tidale Atemvolumen eine Größenordnung von ungefähr 500 ml oder 0,7 ml/kg KG.

Eine besondere Bedeutung kommt hierbei dem endtidalen Volumenanteil zu. Er ist als der Volumenanteil definiert, der am Ende der Ausatmung aus den Atemwegen strömt und maßgeblich aus den Alveolen stammt (King et al. 2010). Im endtidalen Volumenanteil der Ausatmung fallen keine Anteile mehr aus dem Totraumvolumen an. Als Arbeitshypothese kann deshalb die Annahme formuliert werden, dass die Intensität der VOCs im endtidalen Volumen eine Annäherung an die Konzentration im Blut darstellt. Hierbei wird Bezug genommen auf die in Anästhesiologie, Notfall- und Intensivmedizin genutzte Kapnometrie, wo die endtidale Bestimmung des Kohlenstoffdioxid in der Ausatemluft bei lungengesunden Patienten einen richtungsweisenden Wert für den Kohlenstoffdioxid-Partialdruck im Blut darstellt. Die Messwerte des endtidalen Kohlenstoffdioxid und des arteriellen Kohlenstoffdioxid-Partialdrucks unterscheiden sich etwa um 3-5 mmHg (Whitaker 2011). Eine direkte Analogie von VOCs und Kohlendioxid in diesem Zusammenhang kann allerdings nur eingeschränkt erfolgen, da Kohlendioxid ein leicht diffusibles Gas mit einfacher Molekülstruktur im Gegensatz zu den in der Regel wesentlich komplexeren Strukturen der meisten VOCs darstellt.

## **2.8. Minimierung des Störfaktors Raumluft während einer Probeentnahme**

Die der atmosphärischen Umgebung entstammenden VOCs nehmen auf die Probeentnahme maßgeblichen Einfluss und beeinträchtigen die Definition, der für die medizinische Diagnostik wichtigen endogenen VOCs (Roehl 1991).

Als Versuche diesen Einfluss zu minimieren oder gänzlich auszuschalten kann der Gebrauch von Aktivkohlefiltern (Wallace et al. 1996), die Subtraktion der Raumluft-VOCs von den endogenen VOCs (Brown et al. 2009; Cope et al. 2004; Gorham et al. 2013; Phillips 1992), die Auswaschung der Atemwege mit aufgereinigter Luft (Gordon et al. 1985; Kneepkens et al. 1994; O'Neill et al. 1988; Risby 2006), oder die Anreicherung von endogenen VOCs in geschlossenen Systemen (Phillips et al. 2004) angesehen werden. Ein anderer Ansatz besteht darin, die Einflüsse der aus der Umgebung stammenden VOCs auf die Atemanalyse durch die Atmung synthetischer Luft über eine Ganzgesichtsmaske zu reduzieren oder weitgehend auszuschalten.

## **2.9. Fragestellung**

Es ist die Zielsetzung unserer Studie, eine Antwort auf die Frage zu geben, inwieweit es mit Hilfe der MCC/IMS-Technologie durch die Einrichtung zweier unterschiedlicher Messaufbauten gelingt, eine Differenzierung zwischen VOCs endogenen und exogenen Ursprungs im Exhalat vorzunehmen. Als exogene VOCs definierten wir primär die situativ in der Umgebungsluft (ambient air) auftretenden VOCs, die ein Proband über die Atmung aufnimmt und diese über die Lunge auch wieder abatmet. Als endogene VOCs dagegen seien die definiert, die den vielfältigen Stoffwechselprozessen des Körpers und der ihn besiedelnden Organismen entstammen. Als problematisch erweist sich die Zuordnung von VOCs, die über den Magen-Darm-Trakt mit der Nahrung aufgenommen werden oder über Haut und Schleimhäute in Pharmaka oder Kosmetika resorbiert werden. Da es sich bei ihnen nicht um originär dem Organismus eigene Substanzen handelt, müssen sie den VOCs exogenen Ursprungs zugeordnet werden.

Für den ersten Versuchsaufbau wurde das Exhalat getrennt zwei MCC/IMS-Geräteeinheiten zugeführt. Für das eine Gerät erfolgte –manuell gesteuert in der Expirationsphase- eine tidale Probeentnahme. Für das zweite Gerät wurde die Probeentnahme -durch Spirometrie gesteuert- endtidal entnommen. Die tidal und endtidal detektierten VOCs sollen im Hinblick auf ihre Intensitäten miteinander verglichen und die Frage diskutiert werden, ob sich hieraus Folgerungen für eine Zuordnung von VOCs zu ihrem Ursprung ableiten lassen.

Der zweite Messaufbau sollte bei Substitution der Umgebungsluft durch synthetische Luft von sehr hohem Reinheitsgrad, die quantitativen Veränderungen der VOCs bei kontinuierlicher Messung in der Expiration verfolgen und anhand der dabei gewonnen Daten die Frage klären, ob durch die Atmung von synthetischer Luft eine Differenzierung zwischen endogenen und exogenen VOCs erfolgen kann.

Die Messergebnisse aus den unterschiedlich definierten Probeentnahmen der beiden Versuchsaufbauten werden verglichen; ihre Wertigkeit und Relevanz für die Differenzierung exogener und endogener VOCs werden diskutiert.

Bei der Entscheidung, welche Messreihe ein optimiertes Ergebnis für eine VOC-Differenzierung darstellt, wurde besonders auf folgende Fragestellungen eingegangen:

1. Sind die VOCs in den verschiedenen Phasen- tidal und endtidal- der Expiration mit einer manuell gesteuerten und durch Spirometrie gesteuerten Atemgasanalyse klar voneinander zu trennen?
2. Kann ein VOC anhand seiner Intensitätsveränderung bei Atmung von synthetischer Luft einem endogenen oder exogenen Ursprung zugeordnet werden?
3. Wenn in den beiden Versuchsreihen eine Zuordnung der detektierten VOCs zu einem Ursprung -endogen oder exogen- vorgenommen werden kann, sind diese Zuordnungen dann identisch oder treten Widersprüche auf?

### 3. Material und Methodik

#### 3.1. Multikapillarsäulen-Ionenmobilitätsspektrometer Einstellung und Parameter

##### 3.1.1. Multikapillarsäulen-Ionenmobilitätsspektrometer

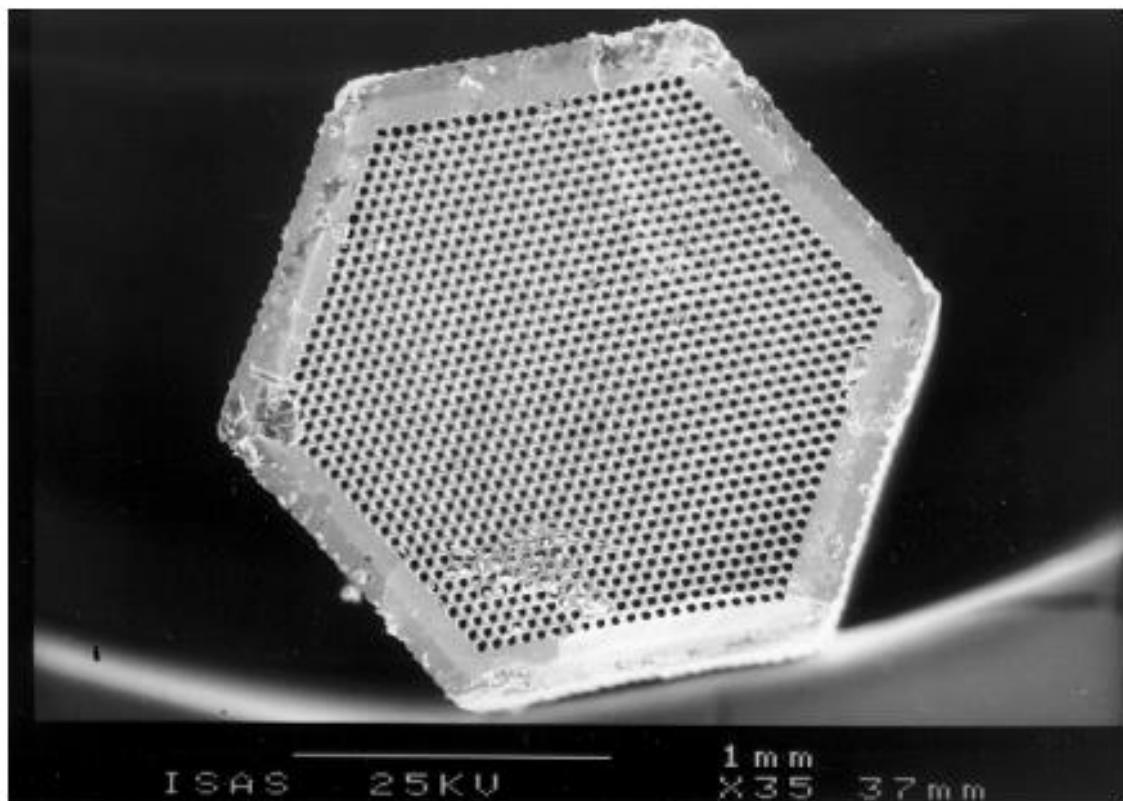
Für alle Messungen wird ein MCC/IMS vom Typ BioScout benutzt (B&S Analytik GmbH, Dortmund, Deutschland).

Das MCC/IMS besteht aus zwei Einheiten: Einer Multikapillarsäule und einem Ionenmobilitätsspektrometer.

##### 3.1.1.1. Multikapillarsäule

Die Multikapillarsäule ist dem Ionenmobilitätsspektrometer zum Zweck der schnellen Vortrennung der VOCs vorgeschaltet. Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde eine Multikapillarsäule OV5 verwendet (Multichrom LTD, Moskau und Novosibirsk, Russia). (Abbildung 4). Die genaue Betriebseinstellung zeigt die Tabelle 2.

Als Trägergas wird synthetische Luft (Air Liquide, Deutschland) verwendet. Die VOCs passieren die Multikapillarsäule mit einer Geschwindigkeit von 5-300 ml/min.



**Abbildung 4** Schematische Abbildung des Querschnitts einer MCC nach (Multichrom Ltd 2009)

## Betriebeseinstellungen der Multikapillarsäule Typ MCC-OV5

Temperatur	max. 250 °C
Trägergasfluss	5-300 ml/min
Säulenlänge	bis 100 cm
Anzahl der Kapillaren	900-1200
Innendurchmesser der Kapillaren	43 µm
Filmdicke	200 nm
Polarität	polar/ unpolar
Beschichtung der Kapillaren	5% - Diphenyl-, 95% - Dimethylpolysiloxane

**Tabelle 2** Betriebseinstellung der MCC Typ OV5 nach Multichrom LTD (Moskau und Novosibirsk, Russia)

### 3.1.1.2. Ionenmobilitätsspektrometer

Das IMS lässt sich - wie bereits zuvor beschrieben- in die drei funktionellen Bestandteile unterteilen: Die Ionisationsregion, die Driftregion und die Detektionsregion (Abbildung 1).

Für die vorliegende Studie ist ein Ionenmobilitätsspektrometer mit einem 550 MBq <sup>63</sup>Ni-Strahler verwendet worden (Bioscout 2011, B&S Analytik, Dortmund, Germany). Der Strahler emittiert durch das Nuklid <sup>63</sup>Ni β-Teilchen mit einer Energie von 67 keV.

Ein Bradbury-Nielsen Schaltgitter trennt die Ionisierungsregion von der Driftregion. Das Schaltgitter besteht aus zwei Einzelgittern. Jedes Einzelgitter setzt sich wiederum aus parallel angeordneten Drähten zusammen, die im Abstand von 1mm zueinander stehen. Alle 100 ms öffnet sich das Gitter für 300µs.

Während die Ionen mit dem Trägergas durch die Driftregion strömen, fließt ein Driftgas gegen ihre Stromrichtung. Wie für das Trägergas wird auch für das Driftgas synthetische Luft verwendet. Die Flussgeschwindigkeit ist bei allen Messungen für das Driftgas auf 100 ml/min und das Trägergas auf 150 ml/min eingestellt. Die Länge der Driftregion beträgt 12 cm. In der Driftregion wird die Driftgeschwindigkeit ( $v_d$ ) der ionisierten VOCs bestimmt. Sie setzt sich zusammen aus dem Quotienten der Driftstrecke ( $l_d$ ) und der Driftzeit ( $t_d$ ).

$$v_d = \frac{l_d}{t_d}$$

Durch die Anlage eines elektrischen Feldes im Bereich der Driftregion soll die Ionenmobilität  $K_0$  in der Driftregion bestimmt werden. Sie lässt sich durch die Driftgeschwindigkeit ( $v_d$ ) und die elektrische Feldstärke  $E$  mit dem Faktor  $K$ , dem Mobilitätskoeffizienten, unter Berücksichtigung der Standardtemperatur ( $T_0$ )= 273,15 °K und des Standarddrucks ( $p_0$ )= 1013,25 hPa, berechnen.

Die elektrische Feldstärke  $E$  beträgt  $300 \text{ V cm}^{-1}$ . Die Homogenität des elektrischen Feldes in der Driftregion ist durch die Anordnung von Driftringen, die aus Glas, Keramik oder Teflon bestehen, gegeben.

Die Driftgeschwindigkeit und die elektrische Feldstärke  $E$  mit dem Faktor  $K$  verhalten sich proportional zu einander:

$$v_d = K * E$$

Die elektrische Feldstärke lässt sich aus der Driftspannung ( $U_d$ ) und der Länge der Driftstrecke ( $l_d$ ) berechnen.

$$E = U_d / l_d$$

Daraus ergibt sich folgende Formel für die den Mobilitätskoeffizienten  $K$ :

$$K = l_d^2 / U_d * t_d$$

Der Mobilitätskoeffizient  $K$  ist temperatur- und druckabhängig. Höhere Temperaturen führen zu einer erhöhten Mobilität und zu einer Verringerung der Gasdichte, während ein höherer Druck das Gegenteil bewirkt. Unter Hinzunahme der beiden Größen, in ihrer Standardgröße und ihrer Veränderung, ergibt sich die Formel für die reduzierte Ionenmobilität  $K_0$

$$K_0 = K * \frac{T_0}{T} * \frac{p}{p_0}$$

Nach der Driftregion gelangen die Ionen in die Detektionsregion. Sie besteht aus einer Faradayschen-Platte. Treffen die Ionen auf den Detektor, erzeugt dieser ein elektrisches Signal, das durch einen Strom- bzw. Spannungswandler verstärkt wird und das Messsignal bildet.

Einen Überblick über die Einstellung des IMS gibt Tabelle 3.

## Betriebseinstellung Bioscout 2011 MCC/IMS

Ionisationsquelle	β-Strahler ( <sup>63</sup> Ni 550 MBq)
Öffnungszeit des Schaltgitter	300 μs
Druck	Umgebungsdruck
Temperatur	40 °C
Elektrische Feldstärke	300 V/cm
Driftstrecke	12 cm
Driftdurchmesser	15 mm
Trägergasfluss	150 ml/min
Probefluss	75 ml/min
Volumen der Probeschleife	10 ml
Zusammensetzung der synthetischen Luft	O <sub>2</sub> 20,5 Vol-%, N <sub>2</sub> 79,5 %, CO <sub>2</sub> < 100 ppbv, CO < 100 ppbv, Kohlenwasserstoffe < 50 ppbv, Stickoxide < 10 ppbv, SO <sub>2</sub> < 5 ppbv, H <sub>2</sub> S < 5 ppbv, H <sub>2</sub> O < 2 ppmv

**Tabelle 3** Betriebseinstellung Bioscout 2011 MCC/IMS nach B&S Analytik GmbH (Dortmund, Germany)

### 3.1.2. Spirometrie

Für die Probeentnahmen wurde ein Spirometer des Typs SpiroScout (Ganshorn Medizin Electronic, Niederlauer, Germany) verwendet. An das Spirometer ist ein Mundstück vom Model Spirette (Medizintechnik AG, Zürich, Switzerland) angebracht, über das der Proband seine Atemprobe abgibt. Ein Polytetrafluorethylenschlauch (Teflon®) und ein Edelstahlkonnektor koppeln das Spirometer an das MCC/IMS-System zur Weiterleitung der Atemprobe. Die Parameter der Probeentnahme können selektiv individuell angepasst werden.

### 3.2. Daten-Analyse

Für die Auswertung der Atemgasprobe wurde das Softwareprogram VisualNow 3.1 (B&S Analytik GmbH, Dortmund, Germany) zusammen mit der BS-MCC/IMS Datenbank Version 1209 und dem Softwareprogramm MIMA (MIMA GmbH, Hamburg, Germany) gewählt.

#### 3.2.1. VisualNow

Signale mit einer Signalstärke von 0.0001 mV bis 0,5 V werden als Signalpeak der VOCs wahrgenommen. VOCs mit einer Signalstärke  $\geq 0,5$  V werden nicht mehr beachtet.



### **3.2.2. BS-MCC/IMS-Databank und MIMA Software**

Durch die BS-MCC/IMS Datenbank Version 1209 (B&S Analytik, Dortmund, Germany) und das automatische Softwareprogramm MIMA können die gemessenen VOCs als definierte chemische Stoffe identifiziert werden. Ist ein VOC nicht genau identifizierbar, so kann die Software den nächst gelegenen Stoff für den gesuchten VOC bestimmen oder der VOC wird als „unknown“ bezeichnet. Die Registrierung der VOCs mit ihrer Ionenmobilität und Retentionszeit erfolgt durch Eintragung in ein Tabellenblatt (EXCEL 2003, Microsoft, redmind, USA).

### **3.3. Probanden beider Messreihen**

Nach Prüfung und Billigung des Studienprotokolls durch die Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes (Ärztekammer des Saarlandes, Saarbrücken, Deutschland Nummer (130/13) nahmen insgesamt 40 gesunde Probanden (jeweils 20 Probanden pro Versuchsaufbau) an der Studie teil. Schwerwiegende Erkrankungen in der Anamnese galten als absolute Ausschlusskriterien. Die Probanden waren ausnahmslos Nichtraucher. Sie wurden über den Ablauf der Messungen und über etwaige Risiken detailliert aufgeklärt. Nach der Aufklärung durch einen Arzt unserer Abteilung erfolgte eine schriftliche Einholung der Einwilligung. Für die Teilnahme an der Studie galt als Voraussetzung, dass die Probanden eine Stunde vor Beginn der Messung keine feste oder flüssige Nahrung zu sich genommen hatten.

### **3.4. Messaufbau, Messablauf und Auswertung**

#### **3.4.1. Messaufbau, Messablauf und Auswertung der endtidalen und tidalen VOC-Bestimmung**

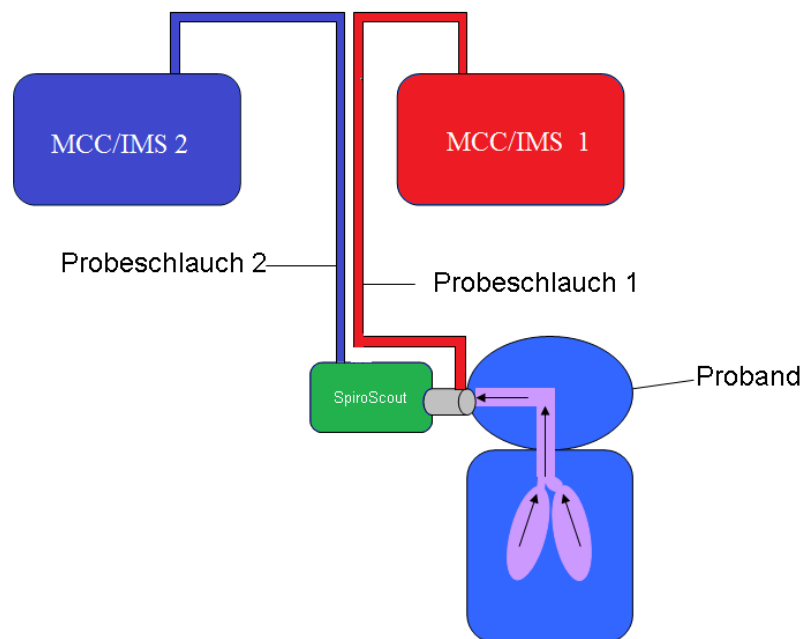
Der im Folgenden beschriebene Messaufbau und Messablauf wurde am Center of Breath Research (CBR) der Universitätskliniken des Saarlandes in Homburg/ Saar (experimentelle Anästhesiologie, Leiter: Prof. Dr. Kreuer) durchgeführt. Ziel war es, die Ausatemluft in einen tidalen und in einen endtidalen Volumenanteil zu separieren und getrennt die dort vorhandenen VOCs zu detektieren. Die tidale Atemgasprobe wurde durch eine manuell gestartete Probeentnahme entnommen, die endtidale Probeentnahme erfolgte dagegen spirometrie gesteuert.

##### **3.4.1.1. Messaufbau zur Bestimmung der endtidalen und tidalen VOCs**

Zur Durchführung der Messung wurden zwei MCC/IMS Typ BioScout und ein Spirometer vom Typ SpiroScout verwendet.

Das mit dem Mundstück verbundene Spirometer wurde mit einem der MCC/IMS- Geräte über einen Polytetrafluorethylenschlauch verbunden (Probeschlauch 2, blau). Probeschlauch 1 (rot)

wurde ebenfalls an das Mundstück unter Umgehung des Spirometers befestigt und einem weiteren MCC/IMS (rot) zugeleitet. Beide Polytetrafluorethylenschläuche hatten die gleiche Länge. Über System 1 (rot) erfolgte die manuell gesteuerte tidale Messung, über System 2 (blau) wurde die durch Spirometrie gesteuerte endtidale Messung vorgenommen. (Abbildung 5)



**Abbildung 5** Messaufbau tidale- und endtidale VOC-Bestimmung. Probeschenkel blau: Bestimmung der endtidalen VOCs mittels einer durch Spirometrie gesteuerten Probeentnahme; Probeschenkel rot: Bestimmung der tidalen VOCs durch eine manuell gesteuerte Probeentnahme

#### ***3.4.1.2. Messablauf zur Bestimmung der endtidalen und tidalen VOCs durch eine manuell-gesteuerte und Spirometrie-gesteuerte Probeentnahme***

##### *Raumluftmessung*

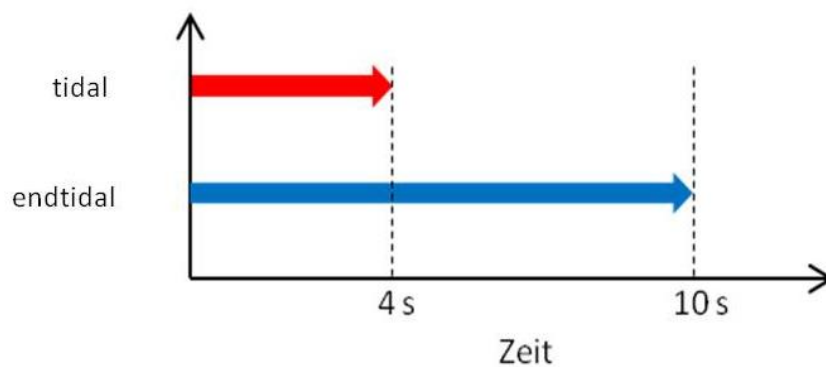
Vor jeder Probandenmessung wurde eine Raumluftmessung durchgeführt, bei der sowohl der Proband, als auch der Untersucher im Untersuchungsraum anwesend waren. Durch diese Messung konnten alle VOCs erfasst werden, die sowohl vom Probanden als auch vom Untersucher, von der Umgebung und dem gesamten technischen Equipment stammen. Während der Raumluftmessung waren die Probeschläuche 1 und 2 schon an den zwei MCC/IMS-Einheiten befestigt. Die Raumluftmessung an den beiden Geräten wurde mit denselben Einstellungen durchgeführt wie die nachfolgenden Atemluftmessungen.

Nach der Raumluftmessung erfolgten die beiden Probeentnahmen über ein gemeinsames Mundstück mit einer Verzweigung zu den beiden MCC/IMS.

### *Probeentnahme*

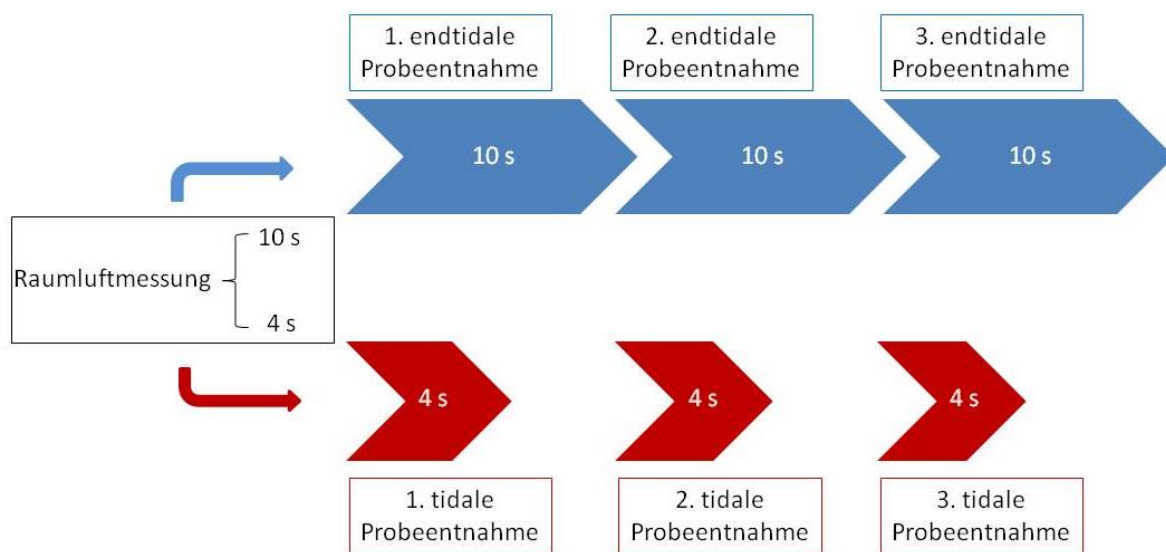
Für den tidalen Volumenanteil wurde die Probeentnahme manuell gestartet. Der Proband musste für 4 Sekunden kontinuierlich in das Mundstück des Spirometers ausatmen (Abbildung 6). Die tidale Probeentnahme wurde ohne über das Spirometriesystem zu laufen direkt an das MCC/IMS weitergeleitet.

Gleichzeitig erfolgte auch die endtidale Probeentnahme. Die endtidale Probeentnahme wurde durch das Spirometriesystem gesteuert und zur Detektion der Analyte an die zweite MCC/IMS-Einheit weitergeleitet. Diese Phase hatte eine Gesamtdauer von 10 Sekunden. Da eine Ausatmung über 10 Sekunden Länge nicht von allen Probanden erreicht werden konnte, war es den Probanden erlaubt die Expiration zu unterbrechen und mit weiteren Atemzügen die Probeentnahmedauer zu füllen. Das Spirometer ermöglicht eine Unterbrechung der Probeentnahme in einer Ausatempause.



**Abbildung 6** Zeitliche Messschemata der tidalen und endtidalen Messung: Der rote Balken zeigt die Messzeit der tidalen Probeentnahme. Gleichzeitig wurde die endtidale Probeentnahme (blau) gestartet.

Die parallel laufenden Probeentnahmen wurden dreimal wiederholt. Ein Überblick über die schematische Abfolge der Messungen gibt Abbildung 7.

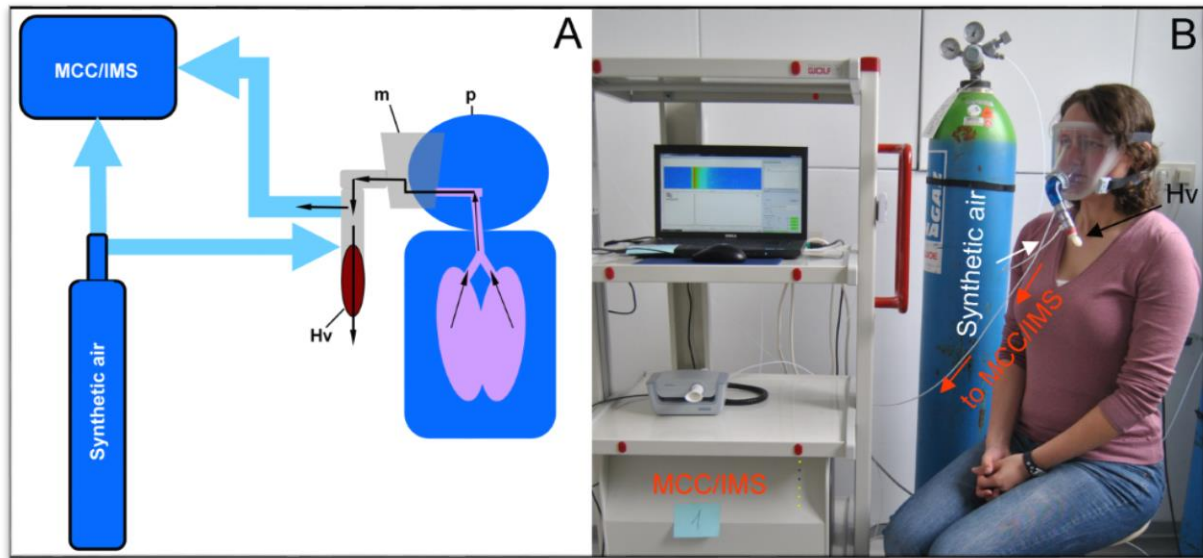


**Abbildung 7** Abfolge der einzelnen Messungen der tidalen und endtidalen Probeentnahme, 1. Raumluftanalyse für 10 und 4 Sekunden , 2. Dreimal gleichzeitig ablaufende Probeentnahmen sowohl tidal (manuell gesteuert über 4 Sekunden ), als auch endtidal (über Spirometrie gesteuert für 10 Sekunden )

### 3.4.1.3. Einteilung der VOCs der tidalen und endtidalen Probeentnahme anhand eines Intensitätsverhältnis

Für die Zuordnung der VOCs zu einem endogenen respektive exogenen Ursprung (siehe Definitionen in Abschnitt 2.9) formulierten wir für unsere Studie die folgende Arbeitshypothese: Ein im endtidalen Volumen als Mittelwert höher gemessener VOC-Wert als der im tidalen Volumen bestimmte Mittelwert ist mit größerer Wahrscheinlichkeit endogenen Ursprungs als es umgekehrt der Fall ist. Aus dem Quotienten Mittelwert der endtidalen VOC-Intensitäten zu Mittelwert der tidalen VOC-Intensitäten ergibt sich damit für den Quotienten größer 1,5 mit hoher Wahrscheinlichkeit die Folgerung des „endogenen Ursprungs“ und vice versa für den Quotienten kleiner 1,5 und deutlicher kleiner 1,0 die Folgerung des „exogenen Ursprungs“. (Tabelle 7)

### 3.4.2. Messaufbau, Messablauf und Auswertung zur Messreihe "Reduzierung der Raumluft-VOCs"



**Abbildung 8** Messaufbau der Messreihe "Reduzierung der Raumluft-VOCs"; MCC/IMS: Multi-Kapillar Ionen-Mobilitäts-Spektrometer; m: Maske; p: Proband; Hv: Heimlichventi

Der zweite Messaufbau und Messablauf wurden ebenfalls am CBR der Universitätskliniken des Saarlandes in Homburg (Saar) durchgeführt. Die Untersuchungen hatten das Ziel, Raumluft in der Probeentnahme von Probanden mit Hilfe von synthetischer Luft (Air Liquide Deutschland GmbH; Stickstoff 79,5 Vol%, Sauerstoff 20,5 Vol%) nachhaltig zu reduzieren. Die Arbeitshypothese lautet, dass nach längerer Atmung von synthetischer Luft sich exogene VOCs so deutlich reduzieren lassen, dass das Exhalom vornehmlich durch VOCs charakterisiert wird, die dem Organismus des Probanden entstammen und damit nach der o.a. Definition endogenen Ursprungs sind.

#### 3.4.2.1. Messaufbau zur Messreihe "Reduzierung der Raumluft-VOCs"

Zur Durchführung der Messung wurde ein MCC/IMS Typ BioScout (B&S Analytik GmbH, Dortmund, Deutschland), ein Spirometer Typ SpiroScout (Ganshorn Medizin Electronic, Niederlauer, Germany), eine CPAP- Ganzgesichtsmaske (NovaStar®TS) und synthetische Luft (Air Liquide Deutschland GmbH, Düsseldorf) verwendet (Abbildung 8).

#### 3.4.2.2. Messablauf zur Messreihe "Reduzierung der Raumluft-VOCs"

##### *Raumluftmessung*

Zuerst erfolgte die Messung der Raumluft des Untersuchungsraums. Zu diesem Zeitpunkt befanden sich sowohl der Proband, der Untersucher, das MCC/IMS, das Spirometer, die Ganzgesichtsmaske und die Flasche mit der synthetischen Luft im Raum. Diese Messung sollte

alle VOCs erfassen, die sowohl vom Probanden, vom Untersucher, der CPAP-Maske (NovaStar®TS) und der Flasche mit der synthetischen Luft stammten.

#### *Spirometrie*

Im Anschluss an die Raumluftmessung wurden über den SpiroScout die VOCs in der Ausatemluft der Probanden gemessen. Hierbei erfolgte eine Erfassung der VOCs der endtidalen Volumenanteile. Der Proband expirierte über das Mundstück des Spirometers. Die Atemprobe wurde über 10 Sekunden lang gesammelt.

#### *Raumluftmessung mit Maske*

Für die weiteren Messungen musste der Proband die Ganzgesichtsmaske aufsetzen. Zuerst atmete er 30 Minuten Raumluft unter der Ganzgesichtsmaske. Über die Dauer von 30 Minuten wurde alle 5 Minuten eine Atemprobe genommen. Während der Probeentnahme wurde er aufgefordert 10 Sekunden auszuatmen; die Probe wurde über die Maske und einen mit ihr verbundenen Polytetrafluorethylenschlauch an das MCC/IMS- Gerät zur Messung gegeben. Um das expirierte Atemvolumen ohne rückgeatmete Anteile zu erfassen, war für die Dauer der Probenahme ein Heimlichventil vor die Maske geschaltet. Dieses Ventil hat die Funktion eines Nichtrückatemventils. Es erlaubt die Ausatmung, verhindert aber die Rückatmung bereits abgeatmeter Volumina einschließlich der darin enthaltenen VOCs. Hierdurch ist gesichert, dass jeweils eine Probe aus einem eigenständigen Exhalatvolumen zur Messung gelangt. Während allen Messungen wurde die Maske auf Dichtigkeit am Gesicht des Probanden überprüft.

#### *Synthetische Luft Messung*

Für weitere 30 Minuten atmeten die Probanden synthetische Luft über eine Ganzgesichtsmaske; die synthetische Luft wurde über einen Polytetrafluorethylenschlauch der Maske zugeleitet. Vor die Maske war wiederum ein Heimlichventil geschaltet. Der Druck der synthetischen Luft war für die Dauer der Zuführung in das System auf 2,5 bar eingestellt. Alle 5 Minuten wurden Atemproben genommen. Während der Atemprobe wurde die Zufuhr von synthetischer Luft unterbrochen und der Proband atmete für 10 Sekunden aus.

#### *Erfassung der VOCs des Maskenmaterials*

Zur Differenzierung der von der Gesichtsmaske abgegebenen VOCs wurde am Ende aller Messungen die offene Seite der Maske mit einer Aluminiumfolie so abgedichtet, dass ausschließlich die dem Probanden aufliegende Seite 5 Minuten lang mit synthetischer Luft gespült werden konnte. Danach wurde über den schon zuvor benutzten Polytetrafluorethylenschlauch eine Probe der Innenseite der Gesichtsmaske zwecks Messung maskeneigener VOCs zum MCC/IMS geleitet.

Einen schematischen Überblick des Ablaufs aller Messungen gibt Abbildung 9.



**Abbildung 9** Abfolge der einzelnen Messungen der Messreihe "Reduzierung der Raumluft-VOCs", 1. Raumluftanalyse, 2. SpiroScout-Messung (endtidal) 3. alle 5 Minuten eine Probeentnahme zuerst unter Raumluftatmung und direkt danach unter Atmung von synthetischer Luft, 4. Probeentnahme der verwendeten CPAP-Maske

#### **2.4.2.3. Einteilung der VOCS der Messung " Reduzierung der Raumluft-VOCs" anhand ihres Intensitätsverlaufes**

Die Intensitätsverläufe der in 5-minütigen Abständen erfolgenden VOCs- Messungen bei Atmung von Raumluft sowie bei Atmung von synthetischer Luft über den jeweiligen Messzyklus von 30 Minuten wurden festgehalten. Für jeden Zeitschritt wurde der Mittelwert aus den gemessenen VOCs-Intensitäten der untersuchten Probanden errechnet. Der Vergleich der Mittelwerte über die Zeit erlaubte eine Beurteilung des Verhaltens der VOCs im Hinblick auf ihre Auswaschung oder einer eventuellen Anreicherung. Da nicht alle VOCs bei allen Probanden zu detektieren waren, errechneten sich die Mittelwerte aus einer unterschiedlichen Zahl von Einzelwerten. VOCs, die unter Atmung von synthetischer Luft in ihrem Intensitätsverlauf ein ähnliches Verhalten aufwiesen, fassten wir jeweils in einer Gruppe zusammen.

### **3.5. Auswertung der Daten aller Messreihen**

Für jede Probeentnahme fertigte die Software VisualNow 3.1 ein Chromatogramm an. In dem Chromatogramm waren alle gemessenen VOCs mit ihren Intensitäten, Retentionszeiten (RT) und den inversen Ionenmobilitäten ( $1/K_0$ ) aufgezeichnet.

Danach wurden die VOCs aller Chromatogramme identifiziert. Hierfür wurden das Softwareprogramm MIMA und die MCC/IMS Datenbank Version 1209 zu Hilfe gezogen. Die

Software ermöglicht die Zuordnung jedes einzelnen VOC zu einer definierten organisch-chemischen Verbindung.

### **3.5.1. Statistik**

Die Daten aller VOCs wurden über das Softwareprogramm MIMA in eine Exceltabelle übertragen. Für die statistische Berechnung wurden die Intensitätswerte der detektierten VOCs genommen und mit der Software SigmaPlot 12.5. (Systat Software Inc., San Jose, Kalifornien, USA) auf ihre statistische Signifikanz geprüft. Anhand eines gepaarten t-Tests wurden die Intensitäten der VOCs, die bei mehreren Probanden sowohl in der endtidalen als auch in der tidalen Messung auftraten, verglichen. P- Werte  $\leq 0,05$  wurden als statistisch signifikant gesehen.

War ein VOC nur bei einem Probanden während der Probeentnahme gemessen worden, wurde für die statistische Berechnung der Mann-Whitney-U-Test herangezogen.



## 4. Ergebnisse

### 4.1. Ergebnisse der tidalen und endtidalen Probeentnahmen

Der erste Versuchsaufbau lieferte die Messergebnisse der endtidalen und tidalen Probeentnahmen. Tabelle 4 gibt die biometrischen und demographischen Daten unserer Probanden wieder, die sich freiwillig für diesen Teil der Studie zur Verfügung gestellt hatten.

Proband	Geschlecht	Alter	Körpergröße	Gewicht
1	weiblich	24	1,69 cm	55 kg
2	weiblich	59	1,65 cm	58 kg
3	weiblich	27	1,75 cm	58 kg
4	weiblich	24	1,76 cm	64kg
5	männlich	25	1,71 cm	70 kg
6	männlich	29	1,78 cm	91 kg
7	weiblich	25	1,62 cm	69 kg
8	männlich	25	1,86 cm	73 kg
9	männlich	59	1,90 cm	79 kg
10	weiblich	24	1,66 cm	65 kg
11	weiblich	55	1,73 cm	62 kg
12	männlich	35	1,75 cm	80 kg
13	männlich	32	1,75 cm	71kg
14	männlich	27	1,82 cm	74 kg
15	männlich	30	1,89 cm	85 kg
16	männlich	23	1,88 cm	79 kg
17	männlich	28	1,90 cm	75kg
18	weiblich	23	1,63 cm	53 kg
19	weiblich	28	1,68 cm	54 kg
20	männlich	29	1,89 cm	81 kg

**Tabelle 4** Probanden der tidalen und endtidalen Probeentnahme und ihre demographische Daten

20 Probanden wurden jeweils in die beiden Untersuchungsreihen der Studie aufgenommen. Die erste Gruppe war zwischen 23-59 Jahren alt; das mittlere Alter betrug 31 Jahre. Das Geschlechterverhältnis war ausgeglichen; von den 20 Probanden waren 9 weiblichen und 11 männlichen Geschlechts.

#### **4.1.1. Auswertung der Chromatogramme der endtidalen und tidalen Probeentnahme**

Insgesamt wurden in den Proben der Raumluft und in den Atemluftproben der endtidalen und tidalen Messungen 33 VOCs detektiert. Mit der MCC/IMS Datenbank Version 1209 wurden die VOCs definierten organischen chemischen Verbindungen zugeordnet. Für vier VOCs war es der Datenbank nicht möglich eine eindeutige Zuordnung zu einer definierten chemischen Substanz herzustellen. (siehe Tabelle 5)

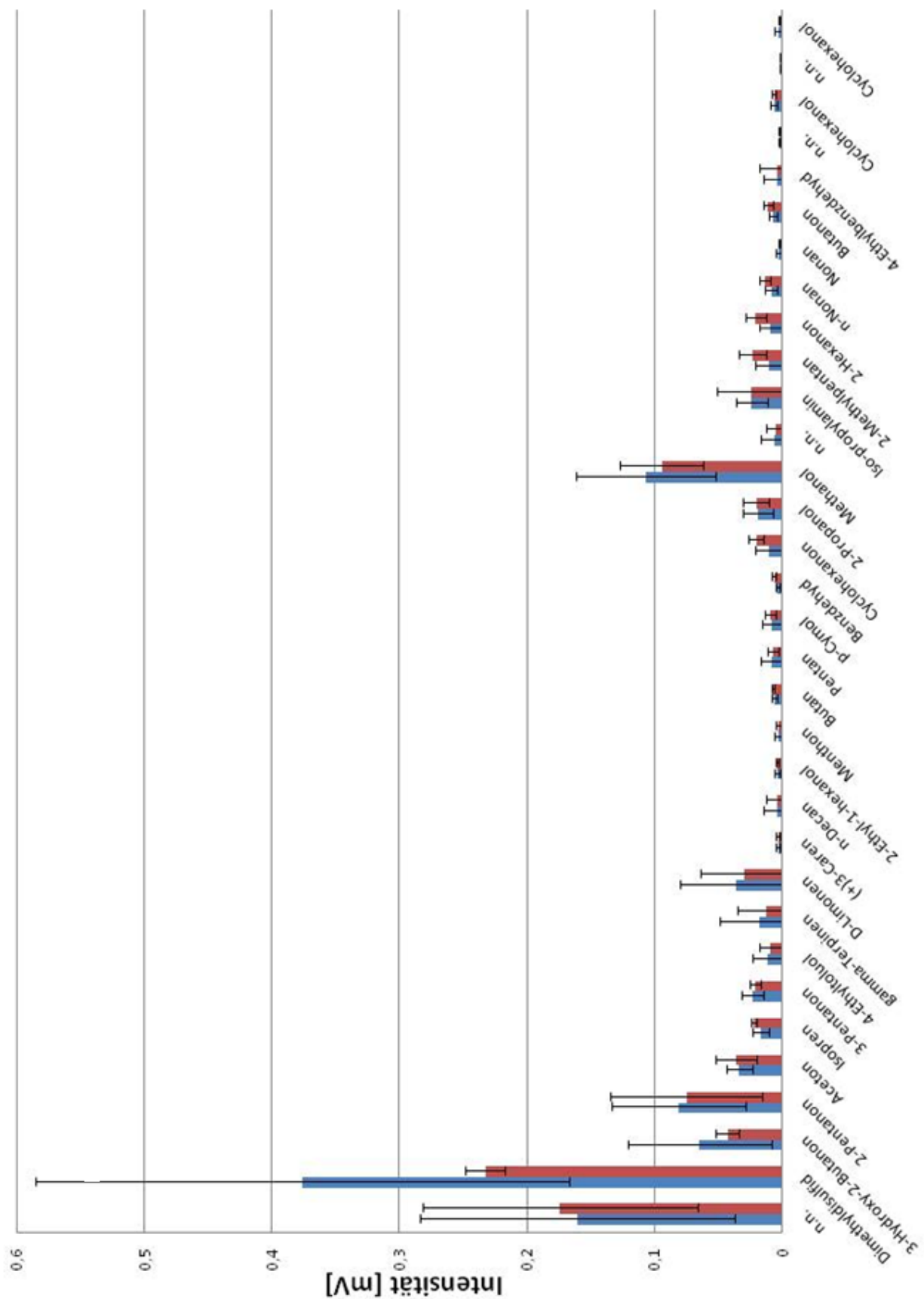
Cyclohexanol wiederholte sich als einzige Substanz mit unterschiedlichen Retentionszeiten und Ionenmobilitäten. Für das erst-detektierte Cyclohexanol waren die Werte  $RT = 8,3 \text{ ms}$  und die  $1/K0 = 0,8 \text{ V s/cm}^2$ . Für das zweit- detektierte Cyclohexanol lagen sie bei  $RT = 9,9 \text{ ms}$  und  $1/K0 = 0,8 \text{ V s/cm}^2$ . Die anderen nachgewiesenen VOCs traten nur einmal auf und konnten an Hand ihrer Parameter  $RT$  und  $1/K0$  einer definierten chemischen Substanz zugeordnet werden.

Die in der Raumluft gemessenen VOCs wurden auch in allen endtidalen und tidalen Proben bei jedem einzelnen der Probanden nachgewiesen. Aus den VOC-Intensitäten der drei durchgeführten Probeentnahmen in der tidalen und endtidalen Ausatemphase wurde jeweils über die Gesamtheit der 20 Probanden ein Mittelwert gebildet. Daraus ergaben sich zwei gemittelte Intensitäten für jeden VOC, jeweils endtidal und tidal. Abbildung 10 zeigt in Balkendiagrammen die endtidalen und tidalen Mittelwerte mit ihren Standardabweichungen. Die blauen Balken zeigen die endtidalen Mittelwerte, die roten Balken geben die tidalen Mittelwerte der VOC-Intensitäten wieder.

Für keinen VOC konnte ein signifikanter Intensitätsunterschied zwischen der endtidalen und tidalen Probe ermittelt werden.

VOCs	RT (ms)	1/K0 (V s/cm <sup>2</sup> )	CAS-Nummer
Methanol	1,92	0,48	67-56-1
Iso-propylamin	2,74	0,54	75-31-0
2-Propanol	2,81	0,52	67-63-0
Aceton	3,02	0,61	107-87-9
3-Pentanon	3,03	0,73	96-22-0
Pentanal	3,59	0,71	110-62-3
Butanal	4,21	0,62	123-72-8
n.n.	4,64	0,51	
Isopren	4,76	0,63	590-86-3
Butanon	6,59	0,47	78-93-3
Dimethyldisulfid	7,31	0,49	624-92-0
Cyclohexanol	8,28	0,63	108-93-0
3-Hydroxy-2-Butanon	8,35	0,52	513-86-0
2-Hexanon	8,72	0,59	591-78-6
n-Nonan	9,21	0,64	111-84-2
2-Pentanon	9,36	0,61	107-87-9
2-Methylpentan	9,81	0,49	107-83-5
Cyclohexanol	9,93	0,84	108-93-0
n.n.	10,01	0,71	
Cyclohexanon	11,14	0,62	108-94-1
Benzaldehyd	20,42	0,64	100-52-7
4-Ethyltuluol	20,78	0,59	622-96-8
(+)3-Caren	21,52	0,64	498-15-7
p-Cymol	24,91	0,63	99-87-6
gamma-Terpinen	31,33	0,57	99-85-4
D-Limonen	31,85	0,56	5989-27-5
2-Ethyl-1-hexanol	36,14	0,69	104-76-7
n-Decan	60,82	0,64	124-18-5
Nonanal	61,81	0,72	124-19-6
Menthon	75,71	0,69	10458-14-7
4-Ethylbenzaldehyd	103,52	0,63	4748-78-1
n.n.	126,18	0,94	
n.n.	148,56	0,81	

**Tabelle 5** Gesamtheit der Raumluft-VOCs und der Atemluft-VOCs aus den tidalen und endtidalen Probeentnahmen sortiert nach ihrer Retentionszeit mit Retentionszeit (RT), Ionenmobilität (1/K0) und Chemical Abstract Service (CAS)-Nummer



**Abbildung 10** Intensitäten aller 33 VOCS der endtidalen (blau) und tidalen (rot) Probeentnahmen (  $\pm$  95% Konfidenzintervall des Mittelwerts;  $p \leq 0,05$ )

VOCs	Mittelwert tidale VOCs	Mittelwert endtidale VOCs
2-Methylpentan	0,022780508	0,010278716
2-Hexanon	0,020447288	0,009297773
Cyclohexanon	0,019982373	0,010674283
Benzaldehyd	0,006229831	0,003440834
n-Nonan	0,013220169	0,008459308
Butanon	0,010789661	0,007258682
Butan	0,00721678	0,005475143
Isopren	0,021520848	0,016676157
p-Cymol	0,008909661	0,007808684
n.n.	0,174078814	0,160349731
2-Ethyl-1-hexanol	0,003688644	0,003408327
n.n.	0,001460877	0,001354766
Aceton	0,036195424	0,033587613
2-Propanol	0,02035339	0,018924919
4-Ethylbenzaldehyd	0,003915102	0,003684436
Iso-Propylamin	0,024507458	0,023611952
Cyclohexanol	0,006367966	0,006413702
(+)-3-Caren	0,00301322	0,00315005
n-Decan	0,003872241	0,004127628
2-Pentanon	0,074922203	0,08084833
Pentan	0,007203898	0,007842168
3-Pentanon	0,020917458	0,023086251
Methanol	0,094050678	0,10656451
Menthon	0,002560893	0,002903159
n.n.	0,001826207	0,002106784
4-Ethyltuluol	0,009335085	0,011134141
Nonan	0,002103559	0,002511936
n.n.	0,004987797	0,005994121
D-Limonen	0,029097119	0,036424719
Cyclohexanol	0,001736207	0,002368732
gamma-Terpinen	0,012401187	0,017318205
3-Hydroxy-2-Butanon	0,042887288	0,064423187
Dimethyldisulfid	0,232783729	0,375693388

**Tabelle 6** Gesamtheit der Mittelwerte aus den 33 tidalen (rot) VOC-Intensitäten und den 33 endtidalen (blau) VOC-Intensitäten nach jeweils dreifacher Messung je Proband über ein Untersuchungskollektiv von 20 Probanden

Der Mittelwert für Dimethyldisulfid wurde in den tidalen Proben mit 0,2328 mV und in den endtidalen Proben mit 0,3757 mV errechnet. Dimethyldisulfid war damit der VOC mit der höchsten Intensität in beiden Probenentnahmen. Dimethyldisulfid wies auch den größten Intensitätsunterschied auf; der Intensitätsunterschied zwischen endtidal und tidal lag bei 38,04 v.H..

Ein nicht zuzuordnender VOC war in beiden Messungen mit den Intensitäten 0,0014 mV in der endtidalen Messung und mit 0,0015 in der tidalen Messung am schwächsten. Der VOC, der sowohl in der tidalen als auch in der endtidalen Messung die geringste Intensität aufwies, war Cyclohexanol (Tabelle 6).

Der VOC (+)3-Caren zeigte die kleinste Intensitätsdifferenz. Bei einer mittleren Intensität von 0,0031 mV in der endtidalen Messung und einer Intensität von 0,0030 mV in den tidalen Proben, ergab die Differenz der Intensitäten einen Wert von 3,3 v.H.. Der für die Atemgasanalyse wichtige VOC Aceton zeigte im Mittel in den tidalen Proben leicht erhöhte Werte (0,0361mV).

Isopren war mit 0,0215 mV in der tidalen Probe leicht erhöht. Der Alkohol Methanol war mit einer Intensität von 0,1065 mV in der endtidalen Probe erhöht. Bei der tidalen Messung zeigte Methanol eine Intensität von 0,0940 mV.

Tabelle 6 und Abbildung 10 zeigen numerisch und im Balkendiagramm die gemittelten Intensitäten für alle endtidal und tidal detektierten VOCs in der Ausatemluft unserer Probanden. Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen endtidaler und tidaler Intensität konnte für keinen der detektierten VOCs errechnet werden.

#### ***4.1.2.1. Zuordnung der tidal gemessenen und endtidal gemessenen VOCs zu einem Ursprung***

Da keiner der 33 VOCs in seiner gemittelten Intensität einen signifikanten Unterschied zwischen tidaler und endtidaler Ausatemprobe zeigte, konnte mit Hilfe dieser Messwerte keine eindeutige Zuordnung der VOCs zu einem Ursprung - aus der Raumluft (ambient air) oder endogen dem Stoffwechsel der Probanden entstammend- erfolgen. Als eine ergänzende alternative Option, um eine Zuordnung zu einem Ursprung zu definieren, bildeten wir mit den jeweiligen Mittelwerten den Quotienten aus endtidaler und tidaler Intensität eines VOC. Ein Wert  $>1,5$ , d.h. eine endtidal höher gemessene Intensität, spricht - so die Arbeitshypothese- für einen VOC endogenen Ursprungs, während ein Wert  $<1,0$  dessen Ursprung aus der Raumluft konstatiert. Werte zwischen 1,0 und 1,5 lassen auf exogene VOCs schließen, die nach Einatmung nicht wieder sofort über die Lunge ausgeatmet werden. Tabelle 7 zeigt die

errechneten Quotienten aus den gemittelten endtidalen zu tidalen Intensitäten der detektierten VOCs.

Für einen VOC (Dimethyldisulfid) errechneten wir einen Wert >1,5, für 16 VOCs lag der Wert zwischen 1,0 und 1,5, weitere 16 VOCs hatten Werte < 1,0.

VOCs	Verhältnis endtidale VOCs /tidale VOCs
2-Methylpentan	0,45
2-Hexanon	0,45
Cyclohexanon	0,53
Benzaldehyd	0,55
n-Nonan	0,64
Butanon	0,67
Butan	0,76
Isopren	0,77
p-Cymol	0,88
n.n.	0,92
2-Ethyl-1-hexanol	0,92
n.n.	0,92
Aceton	0,93
2-Propanol	0,93
4-Ethylbenzaldehyd	0,94
Iso-Propylamin	0,96
Cyclohexanol	1,01
(+)-3-Caren	1,05
n-Decan	1,07
2-Pentanon	1,08
Pentan	1,09
3-Pentanon	1,10
Methanol	1,13
Menthon	1,13
n.n.	1,15
4-Ethyltuluol	1,19
Nonan	1,19
n.n.	1,20
D-Limonen	1,25
Cyclohexanol	1,36
gamma-Terpinen	1,40
3-Hydroxy-2-Butanon	1,50
Dimethyldisulfid	1,61

**Tabelle 7** Quotient der gemittelten 33 VOC-Intensitäten aus endtidal zu tidal aufsteigend sortiert

#### 4.2. Ergebnisse der Messreihe „Reduzierung der Raumluft VOCs“

Der zweite Messaufbau lieferte die VOC-Intensitäten bei Reduzierung der Raumluft durch das Einleiten von synthetischer Luft in ein System, über das die Probanden unserer Studie unter Anwendung eines Nischtrückatemventils ein- und ausatmeten.

Tabelle 8 gibt eine Übersicht über die biometrischen und demographischen Daten des untersuchten Probandenkollektivs.

Proband	Geschlecht	Alter	Körpergröße	Gewicht
1	männlich	31	1,86 cm	85 kg
2	weiblich	24	1,78 cm	70 kg
3	männlich	32	1,75 cm	71kg
4	weiblich	28	1,68 cm	54 kg
5	weiblich	59	1,65 cm	58 kg
6	männlich	59	1,90 cm	79 kg
7	männlich	25	1,86 cm	73 kg
8	männlich	35	1,75 cm	80 kg
9	männlich	27	1,82 cm	74 kg
10	männlich	23	1,83 cm	75 kg
11	weiblich	24	1,69 cm	55 kg
12	weiblich	25	1,62 cm	69 kg
13	weiblich	24	1,66 cm	65 kg
14	weiblich	27	1,75 cm	58 kg
15	männlich	30	1,89 cm	85 kg
16	weiblich	24	1,76 cm	64 kg
17	weiblich	24	1, 61 cm	50 kg
18	männlich	23	1,88 cm	79 kg
19	männlich	25	1,71 cm	70 kg
20	weiblich	22	1,64cm	48 kg

**Tabelle 8** Probanden der Messreihe "Reduzierung der Raumluft-VOCs " mit demographischen Daten

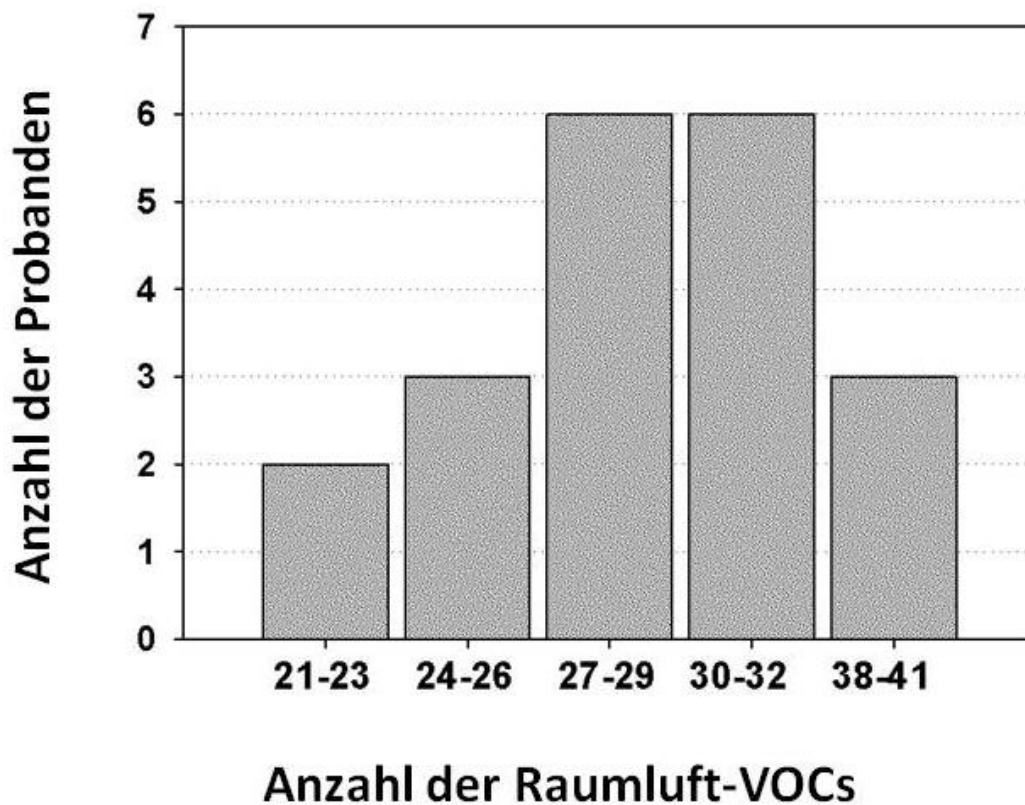
Auch in dieser Untersuchungsreihe wurde im Hinblick auf belastbare Ergebnisse die Anzahl der Probanden auf 20 Personen bestimmt. Sie waren zwischen 22 und 59 Jahren alt; das Alter



betrug im Mittel 27 Jahre. 10 der Probanden waren weiblichen und 10 Probanden männlichen Geschlechts.

#### 4.2.1. Auswertung der Chromatogramme der Messreihe "Reduzierung der Raumluft-VOCs"

Insgesamt wurden in dieser Untersuchungsreihe 68 Raumluft-VOCs detektiert. Keiner der Probanden wies die gesamte Anzahl der 68 Raumluft-VOCs auf. Bei 3 Probanden waren zwischen 38 und 41 Raumluft-VOCs nachzuweisen. 12 Probanden hatten 27-32 Raumluft-VOCs in ihrer Analyse. 3 Probanden zeigten zwischen 24 und 26 Raumluft-VOCs. Bei 2 Probanden konnten zwischen 21 und 23 Raumluft-VOCs nachgewiesen werden. Einen Überblick über die Verteilung zeigt die Abbildung 11.



**Abbildung 11** Häufigkeit der Raumluft-VOCs in der Ausatmung

Mit der MCC/IMS Datenbank wurden die 68 Raumluft-VOCs definierten chemischen Stoffen zugeordnet, wobei einige Substanzen mehrfach in verschiedenen Peaks mit jeweils sich unterscheidenden Ionenmobilitäten und Retentionszeiten detektiert wurden. 2-Heptanone (Peak 7/55), Nonanal (Peak 11/68), m-Xylol (Peak 19/51), Butanal (Peak 28/41), 2-Methylfuran (Peak 32/58), Cyclohexanone (Peak 38/54), Pentanal (Peak 39/47), 1-Hexanol (Peak 46/60), Iso-Propylamine (Peak 52/53) und 2-Pentanone (Peak 57/64) wurden jeweils in 2

verschiedenen Peaks detektiert. 3-Pentanone (Peak 20/61/67) und 3-Hydroxy-2-Butanone (Peak 22/23/31) wurden in 3 verschiedenen Peaks nachgewiesen. In 4 Peaks ließen sich die Analyte 1-Butanol (Peak 25/30/33/48) und Cyclohexanol (Peak 27/35/50/62) nachweisen. Insgesamt konnten somit 48 verschiedene chemische Stoffe detektiert werden. Dieses Phänomen des Mehrfachauftretens von VOCs derselben Substanz in verschiedenen Peaks wird mit der Bildung von Dimeren, Trimeren und Tetrameren erklärt; bei hoher Konzentration verbinden sich Monomere durch Wasserstoffbrückenbildung zu den entsprechenden Homodimeren, Homotrimeren und Homotetrameren. Die Retentionszeiten und Ionenmobilitäten der detektierten Analyte mit der Häufigkeit ihres Vorkommens bei den untersuchten Probanden sind in Tabelle 9 aufgelistet.

Peak	Analyt	RT	1/K0	CAS-Nummer	Probanden
1	2-Methylbutylacetat	15,20	0,63	624-41-9	2
2	Terpinolen	45,60	0,61	586-62-9	6
3	3-Methyl-2-Butanol	18,20	0,62	123-51-3	4
4	cis-4-tert-Butylcyclohexylacetat	350,70	0,98	10411-92-4	2
5	Menthol M	98,00	0,61	89-78-1	11
6	Decamethylcyclopentasiloxan	113,30	0,89	541-02-6	12
7	2-Heptanon	10,60	0,62	110-43-0	1
8	Eucalyptol	28,20	0,83	470-82-6	4
9	1,2,4-Trimethylbenzol	22,30	0,58	95-63-6	20
10	Benzaldehyd	17,80	0,57	100-52-7	20
11	Nonanal	57,30	0,73	124-19-6	20
12	Decanal	136,00	0,76	112-31-2	19
13	2-Octanol	25,10	0,70	4128-31-8	20
14	2-Ethyl-capronaldehyd	17,30	0,66	123-05-7	3
15	2-Phenylethanol	51,70	0,64	60-12-8	2
16	Acetophenon	37,60	0,58	98-86-2	20
17	4-Ethyltuluol	18,70	0,60	622-96-8	8
18	Heptanal	11,10	0,67	111-71-7	1
19	m-Xylol	8,30	0,73	108-38-3	8
20	3-Pentanon	7,00	0,66	96-22-0	2
21	2-Ethyl-1-Hexanol	33,10	0,70	104-76-7	20
22	3-Hydroxy-2-Butanon	4,00	0,67	513-86-0	20
23	3-Hydroxy-2-Butanon	10,90	0,53	513-86-0	19
24	5-Methyl-3-heptanon	16,80	0,64	541-85-5	3
25	1-Butanol	4,60	0,68	71-36-3	2
26	Menthon	77,60	0,66	10458-14-7	2
27	Cyclohexanol	10,80	0,76	108-93-0	11
28	Butanal	6,40	0,63	123-72-8	2
29	1-Octanol	47,00	0,55	111-87-5	5
30	1-Butanol	3,90	0,68	71-36-3	14
31	3-Hydroxy-2-Butanon	6,40	0,54	513-86-0	20

32	2-Methylfuran	2,90	0,63	534-22-5	2
33	1-Butanol	6,60	0,68	71-36-3	2
34	1-Pentanol	7,40	0,61	71-41-0	20
35	Cyclohexanol	11,90	0,61	108-93-0	15
36	2-Hexanon	7,40	0,59	591-78-6	20
37	Hexanal	7,80	0,63	66-25-1	7
38	Cyclohexanon	11,30	0,70	108-94-1	3
39	Pentanal	7,30	0,69	110-62-3	5
40	Butanon	1,40	0,53	78-93-3	20
41	Butanal	3,20	0,63	123-72-8	4
42	2,3-Butandiol	11,80	0,66	513-85-9	10
43	Ethanol	1,40	0,51	64-17-5	10
44	Aceton	2,40	0,50	67-64-1	20
45	Benzol	6,40	0,52	71-43-2	17
46	1 Hexanol	9,30	0,64	111-27-3	1
47	Pentanal	2,90	0,69	110-62-3	10
48	1-Butanol	3,70	0,57	71-36-3	2
49	2-Methylpentan	7,40	0,51	107-83-5	19
50	Cyclohexanol	10,80	0,61	108-93-0	2
51	m-Xylol	8,70	0,74	108-38-3	2
52	Iso-propylamin	3,30	0,59	75-31-0	2
53	Iso-propylamin	0,80	0,58	75-31-0	5
54	Cyclohexanon	10,30	0,56	108-94-1	20
55	2-Heptanon	9,00	0,62	110-43-0	2
56	1-Propanol	2,80	0,71	71-23-8	7
57	2-pentanon	5,00	0,55	107-87-9	20
58	2-Methylfuran	3,80	0,72	534-22-5	2
59	2-Octanon	23,70	0,66	111-13-7	4
60	1-Hexanol	10,40	0,81	111-27-3	1
61	3-Pentanon	10,30	0,55	96-22-0	12
62	Cyclohexanol	9,70	0,61	108-93-0	2
63	Benzothiazol	116,80	0,77	95-16-9	1
64	2-pentanon	2,90	0,55	107-87-9	5
65	n-Nonan	17,80	0,72	111-84-2	2
66	4-Ethylbenzaldehyd	94,10	0,89	4748-78-1	1
67	3-Pentanon	8,50	0,55	96-22-0	2
68	Nonanal	93,20	0,90	124-19-6	1

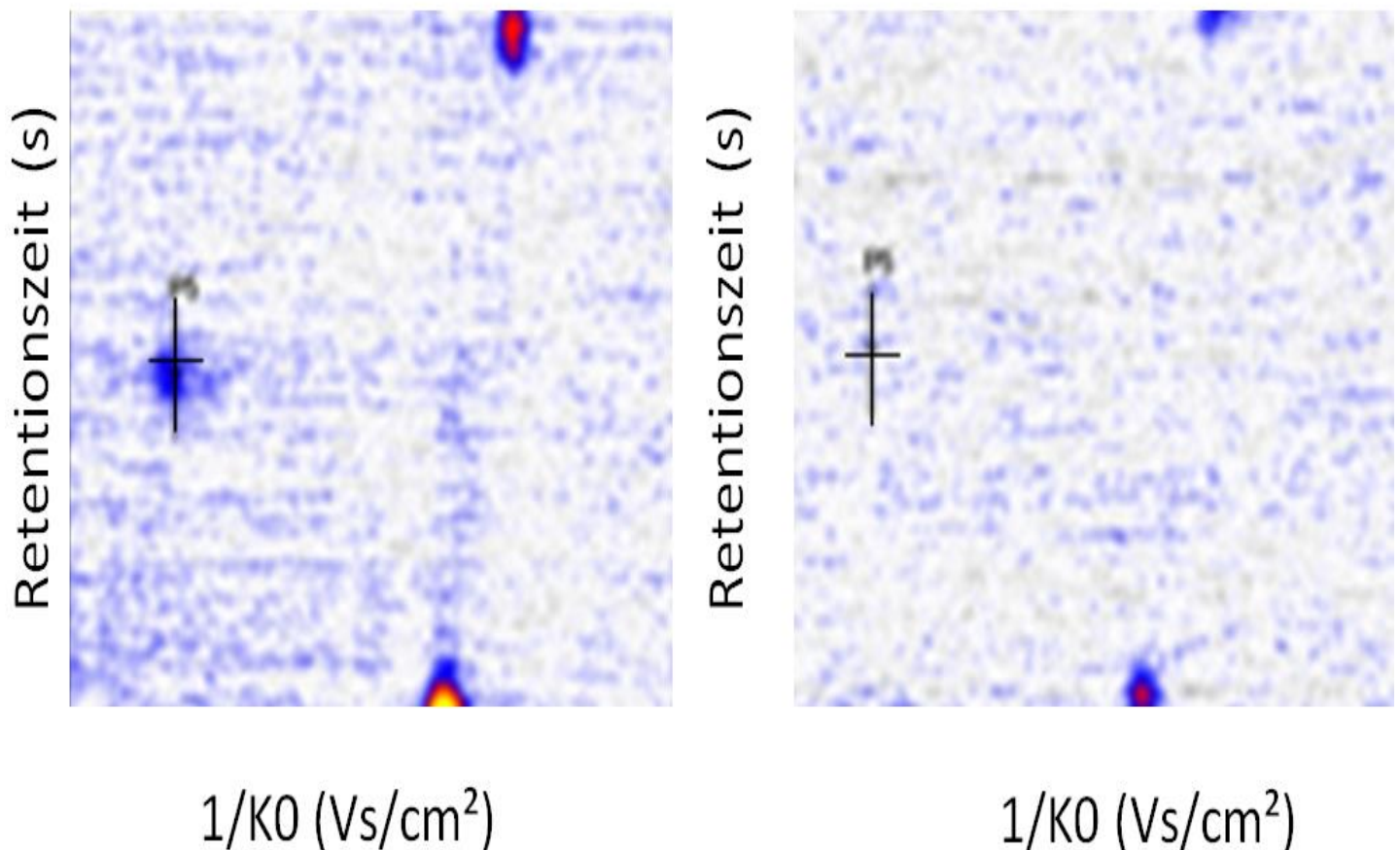
**Tabelle 9** Raumluft-VOCs der Messreihe "Reduzierung der Raumluft-VOCs" mit Retentionszeit (RT), Ionenmobilität (1/K0), CAS- Nummer

7 der VOCs konnten unter der Atmung von synthetischer Luft signifikant ( $p \leq 0,05$ ) reduziert werden: Terpinolene (Peak 2), Menthol; (Peak 5), 1,2,4-Trimethylbenzol (Peak 9), Benzaldehyd (Peak 10), Nonanal (Peak 11), Decanal (Peak 12) und Acetophenone (Peak 16). Die Reduktionen dieser Substanzen, die in unterschiedlicher Häufigkeit bei den Probanden detektiert wurden, betrugen im Einzelnen: Terpinolene (6 Probanden) 65.1 v.H. , Menthol M (11 Probanden) 45.1 v.H. , 1,2,4-Trimethylbenzol (20 Probanden) 38.5 v.H. , Benzaldehyd (20

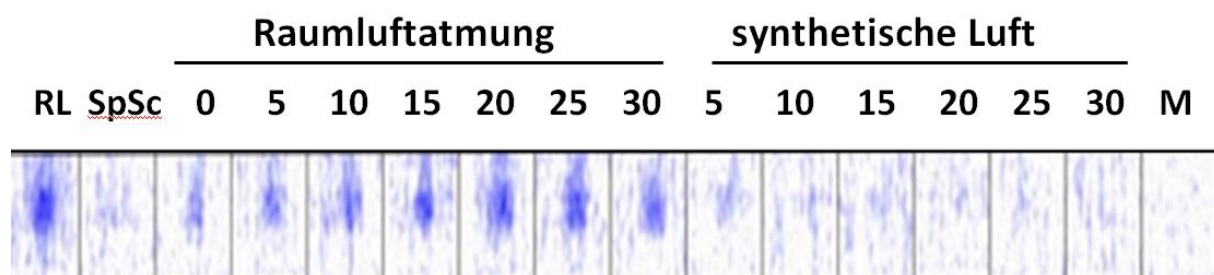
Probanden) 38.1 v.H. , Nonanal (20 Probanden) 31.6 v.H. , Decanal (19 Probanden) 29.0 v.H. , Acetophenone (20 Probanden) 17.4 v.H..

Für alle weiteren detektierten Substanzen, die einen positiven Auswascheffekt unter synthetischer Luft zeigten, ließen sich keine Signifikanzen nachweisen.

Am Beispiel des Menthol M wird in den Abbildungen 12 und 13 die Abnahme der Intensität dieses VOCs über die gesamte Messung gezeigt.

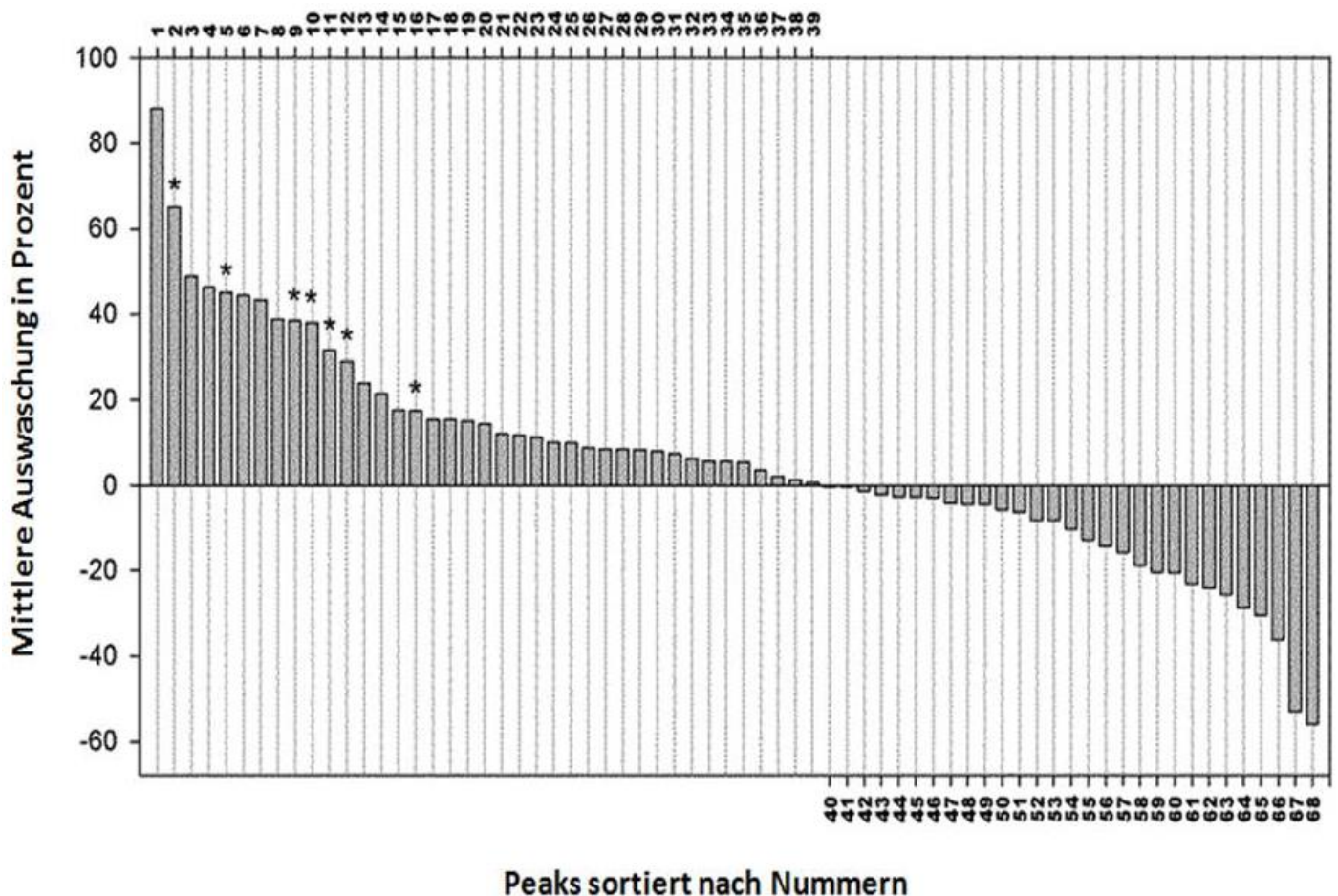


**Abbildung 12** Das linke Chromatogramm zeigt die erste Messung bei der der Proband die Maske trägt und Raumluft atmet. Das rechte Chromatogramm zeigt die Messung nach 30 minütiger Atmung von synthetischer Luft. Der markierte VOC ist Menthol M



**Abbildung 13** Zeitlicher Verlauf des VOCs Menthol M während der gesamten Messung. RL=Raumluft, SpSc=SpiroScout, M=Maskenmessung.

Weitere 32 VOCs wurden während der Messung reduziert; wofür jedoch keine Signifikanz gezeigt werden konnte ( $p > 0,05$ ). 29 VOCs nahmen während der Messung in ihrer Intensität zu. Auch hier konnte keine Signifikanz ermittelt werden.



**Abbildung 14** Mittlere Reduktion der VOCs 1-39 nach 30 minütiger Atmung von synthetischer Luft verglichen mit der Anfangsintensität vor der Gabe von synthetischer Luft. Ein VOC wurde signifikant(\*) reduziert, wenn  $p < 0,05$ . Die Signifikanz wurde mit einem t-Test bestimmt. ( $\pm 95\%$  Konfidenzintervall des Mittelwerts). Mittlere Anreicherung der VOCs 40-68 (keine Signifikanzen!)

#### 4.2.2. Einteilung der VOCs der Messreihe "Reduzierung der Raumluft- VOCs"

Im Interesse der Überschaubarkeit und Beurteilung der großen Zahl der ermittelten Daten fassten wir die VOCs, die im Verlauf der Messung ein ähnliches Verhalten aufwiesen, jeweils in einer Gruppe zusammen. Unter diesem Gesichtspunkt ließen sich insgesamt 5 Gruppen bilden. Jede Gruppe zeigt einen für sich typischen Verlauf der VOCs-Intensitäten. Für die 5 VOCs cis-4-tert-Butylcyclohexylacetat (Peak 4), Heptanal (Peak 18), 1-Hexanol (Peak 46), Benzothiazol (Peak 63) und 4-Ethylbenzaldehyd (Peak 66) ließ sich keine Gruppenzuordnung durchführen.

Im Folgenden werden die einzelnen Gruppen mit ihren zugehörigen VOCs dargestellt. In jeder Gruppe wurde stellvertretend ein VOC graphisch dargestellt. Der erste Wert im Schaubild gibt die über die gesamten Messungen gemittelten Werte der Intensitäten in der umgebenden Raumluft an, der zweite Wert nennt die gemittelten Werte aller Probanden in der endtidalen Phase vor der Raumluftatmung über Maske. Darauf folgen die gemittelten Werte der in 5-minütigen Abständen genommen Proben bei Raumluftatmung über Maske in schwarzer Farbe und der gemittelten Werte bei Atmung von synthetischer Luft über Maske in roter Farbe. Der zuletzt gezeigte Wert nennt die Mittelwerte der von der Innenseite der Maske genommen Proben nach Flutung mit synthetischer Luft.

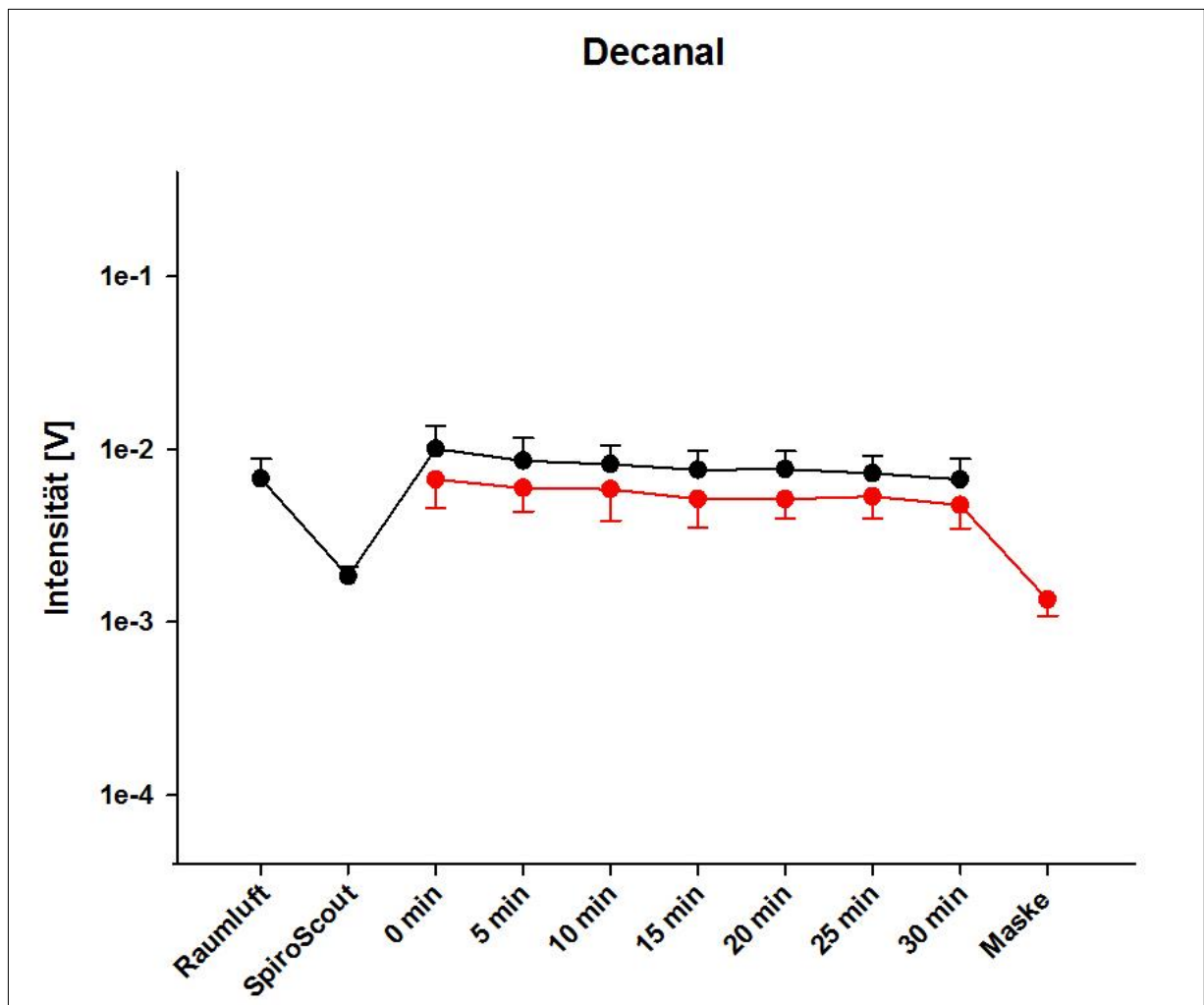
#### **4.2.2.1. Gruppe 1**

9 VOCs werden in dieser Gruppe zusammengefasst: Die Aldehyde Benzaldehyd, Nonanal, Decanal, der Kohlenwasserstoff 1,2,4-Trimethylbenzene, das Keton 5-Methyl-3-Heptanon, der Ester 2-Methylbutylacetat und die Alkohole 2-Octanol, Cyclohexanol und 2-Phenylethanol. Diese VOCs werden in der Raumluft (ambient air) nachgewiesen. Bei der endtidalen Messung fallen sie in ihrer Intensität ab. Während der Raumluftatmung über Maske fallen die Intensitäten weiterhin ab. In den Messungen bei Atmung der synthetischen Luft liegen die Intensitäten deutlich unter den Werten der Raumluftatmung. Einige der VOCs weisen hier statistisch signifikant niedrigere Werte auf.

Am Beispiel von Decanal wird der Verlauf mit den exakten Werten der Intensitäten dieses VOCs aufgezeigt

Abbildung 15 15). Die Intensität der Raumluftmessung liegt bei 0,0083 V. In der Spirometrie-Messung fällt sie auf 0,0029 V. Während der 30 Minuten dauernden Messungen der Raumluftatmung fallen die Intensitäten von 0,011 V auf 0,0089 V. Die nachfolgenden Messungen in der Auswaschphase unter synthetischer Luft zeigen gegenüber der Raumluftatmung niedrigere Intensitäten mit einer Schwankung zwischen 0,0078 V und 0,0062 V. Bei der anschließenden Leermessung (Maskeninnenseite) fiel die Intensität auf 0,0021 V.

Die drei Aldehyde Benzaldehyd, Pelargonaldehyd-Nonanal, Decanal und das C3- Benzol 1,2,4-Trimethylbenzene wurden in dieser Gruppe signifikant reduziert. Benzaldehyd, Pelargonaldehyd (Nonanal) und 1,2,4-Trimethylbenzene waren bei allen 20 Probanden zu finden. Sie wurden zu 38,07 % (Benzaldehyd), 31,58 % (Pelargonaldehyd-Nonanal), 28,95 % (Decanal) und 28,46 % (1,2,4-Trimethylbenzene) reduziert. Decanal trat bei 19 Probanden auf. Die Verläufe der anderen 8 VOCs werden im Anhang dargestellt.



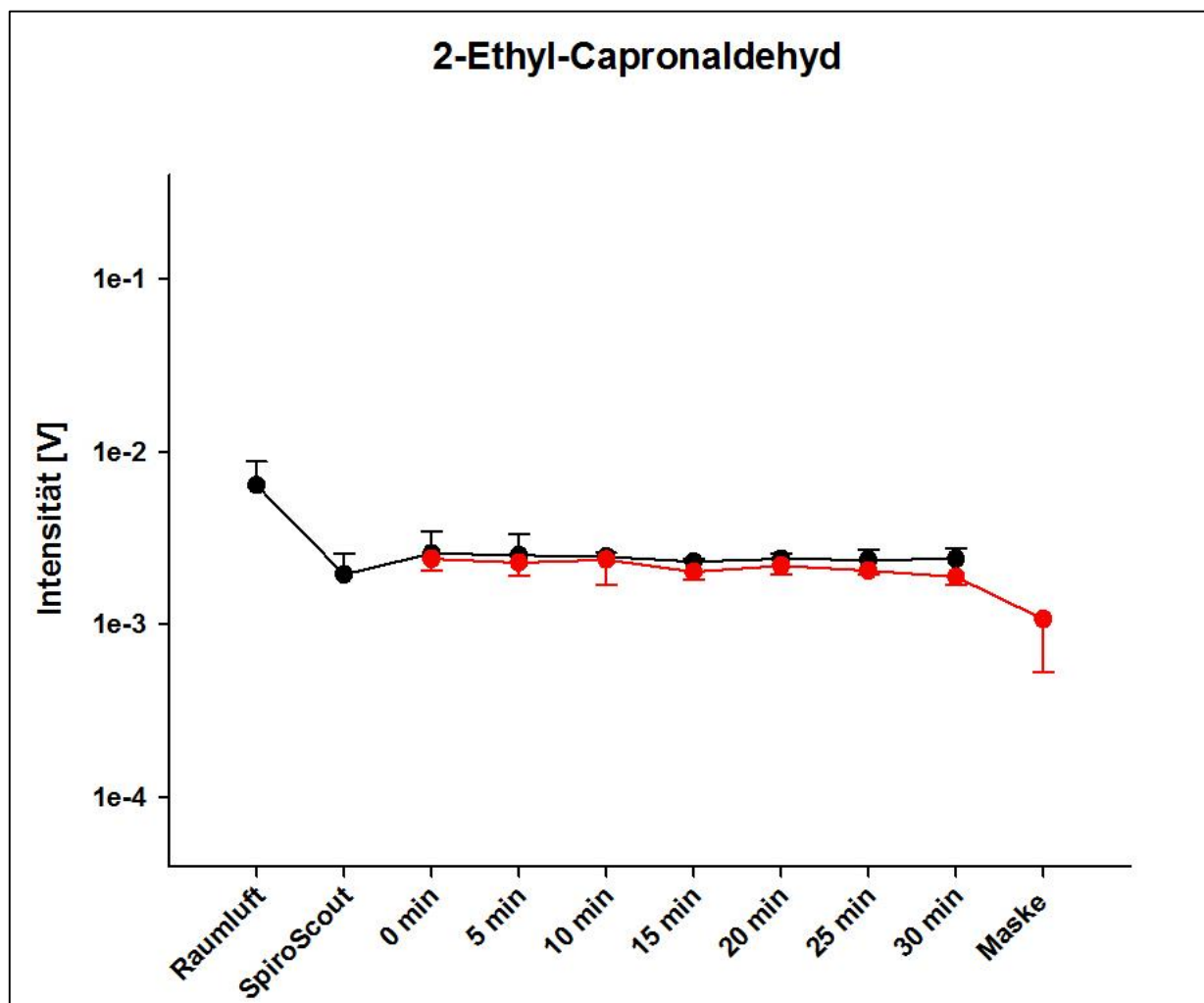
**Abbildung 15** Intensitätsverlauf der Gruppe 1 am Beispiel Decanal. Der schwarze Verlauf stellt den Intensitätsverlauf des VOCs unter Raumlufbedingungen dar. Der rote Verlauf stellt die Intensitäten des VOCs unter Zufuhr von synthetischer Luft dar. ( $\pm 95\%$  Konfidenzintervall des Mittelwerts;  $p \leq 0,05$ )



#### 4.2.2.2. Gruppe 2

In diese Gruppe fallen 20 VOCs: Der Verlauf wird am Beispiel 2-Ethyl-Capronaldehyd verdeutlicht (Abbildung 16). Die Messung der Raumluft liegt bei einer Intensität von 0,0082 V und nimmt bei der Spirometrie auf 0,002 V ab. Nach der Spirometrie steigt die Intensität wieder auf 0,0024 V an. Die beiden 30 Minuten-Messungen zeigen nur geringe Intensitätsunterschiede. Die Messungen, während denen synthetische Luft geatmet wurde, zeigen Intensitätswerte zwischen 0,0024 V und 0,0018 V. Die Vergleichsmessungen unter der Atmung von Raumluft sind leicht erhöht. Sie bewegen sich zwischen 0,0026 V und 0,0021 V. Bei der Leermessung fällt die Intensität auf 0,0001 V.

Acetophenon, ein Keton, wird als einziger VOC dieser Gruppe signifikant reduziert. Acetophenon tritt bei allen 20 Probanden auf. Weitere VOCs können Tabelle 11 entnommen werden. Die Verläufe der anderen 19 VOCs sind im Anhang zu finden.



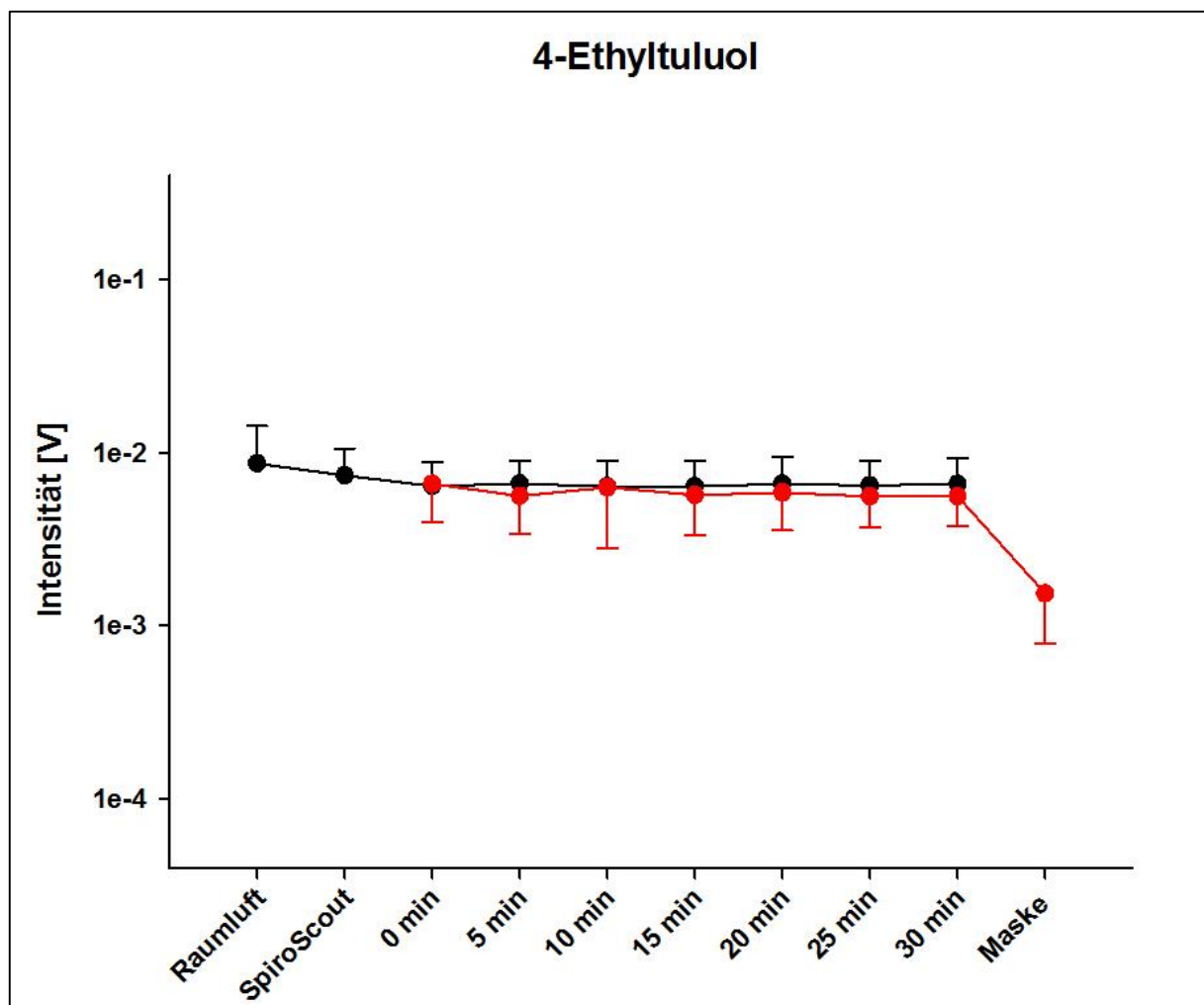
**Abbildung 16** Intensitätsverlauf der Gruppe 2 am Beispiel 2-Ethyl-Capronaldehyd. Der schwarze Verlauf stellt die Intensität des VOCs unter Raumluftbedingungen dar. Der rote Verlauf stellt die Intensität des VOCs unter Zufuhr von synthetischer Luft dar. ( $\pm 95\%$  Konfidenzintervall des Mittelwerts;  $p \leq 0,05$ )



#### 4.2.2.3. Gruppe 3

In dieser Gruppe wurden 7 VOCs zusammengefasst: die Ketone 3-Hydroxy-2-Butanon, 2-Hexanon und Butanon, die Aldehyde Pentanal und Butanal, der Alkohol 1-Butanol und der Kohlenwasserstoff 4-Ethyltuluol.

Zur Veranschaulichung der Intensitäten wird 4-Ethyltuluol in seinem Verlauf beschrieben (Abbildung 17). Die Intensität liegt für die Raumluftanalyse bei 0,0097 V. Die Spirometrie zeigt einen Intensitätswert der gleichen Größenordnung. Während der Raumluftatmung verändert sich die Intensität nur geringfügig; sie bewegt sich zwischen 0,0082 V und 0,0079 V. Bei der Atmung der synthetischen Luft liegen die Intensitäten nur wenig niedriger. Es werden Intensitäten zwischen 0,0082 V und 0,0076 V ermittelt. Bei der Leermessung zeigt die Intensität einen deutlichen Abfall auf 0,0021 V.



**Abbildung 17** Intensitätsverlauf der Gruppe 3 am Beispiel 4-Ethyltuluol. Der schwarze Verlauf stellt die Intensität des VOCs unter Raumluftbedingungen dar. Der rote Verlauf stellt die Intensität des VOCs unter Zufuhr von synthetischer Luft dar. ( $\pm 95\%$  Konfidenzintervall des Mittelwerts;  $p \leq 0,05$ )

In dieser Gruppe befindet sich kein signifikant reduzierter VOC. Die zwei Ketone 3-Hydroxy-2-Butanon und Butanon waren bei allen Probanden zu finden. 3-Hydroxy-2-Butanon wurde zu 11,18 % ausgewaschen, während Butanon mit 0,33 % nur einen minimalen Intensitätsanstieg zeigte. Der Aldehyd Pentanal wurde bei fünf Probanden nachgewiesen; der Aldehyd Butanal dagegen konnte nur bei zwei unserer Probanden detektiert werden. Butanal wurde zu 7,96 % ausgewaschen und Pentanal zu 0,57 %. Der aromatische Kohlenwasserstoff 4-Ethyltoluol wurde bei 8 Probanden im Mittel um 15,32 % reduziert. Der Alkohol 1-Butanol kumuliert leicht und steigt um 4,48 % seiner Ausgangsintensität an. 1-Butanol wurde bei 2 Probanden detektiert. Die Verläufe der anderen 6 VOCs sind im Anhang abgebildet.

#### **4.2.2.4. Gruppe 4**

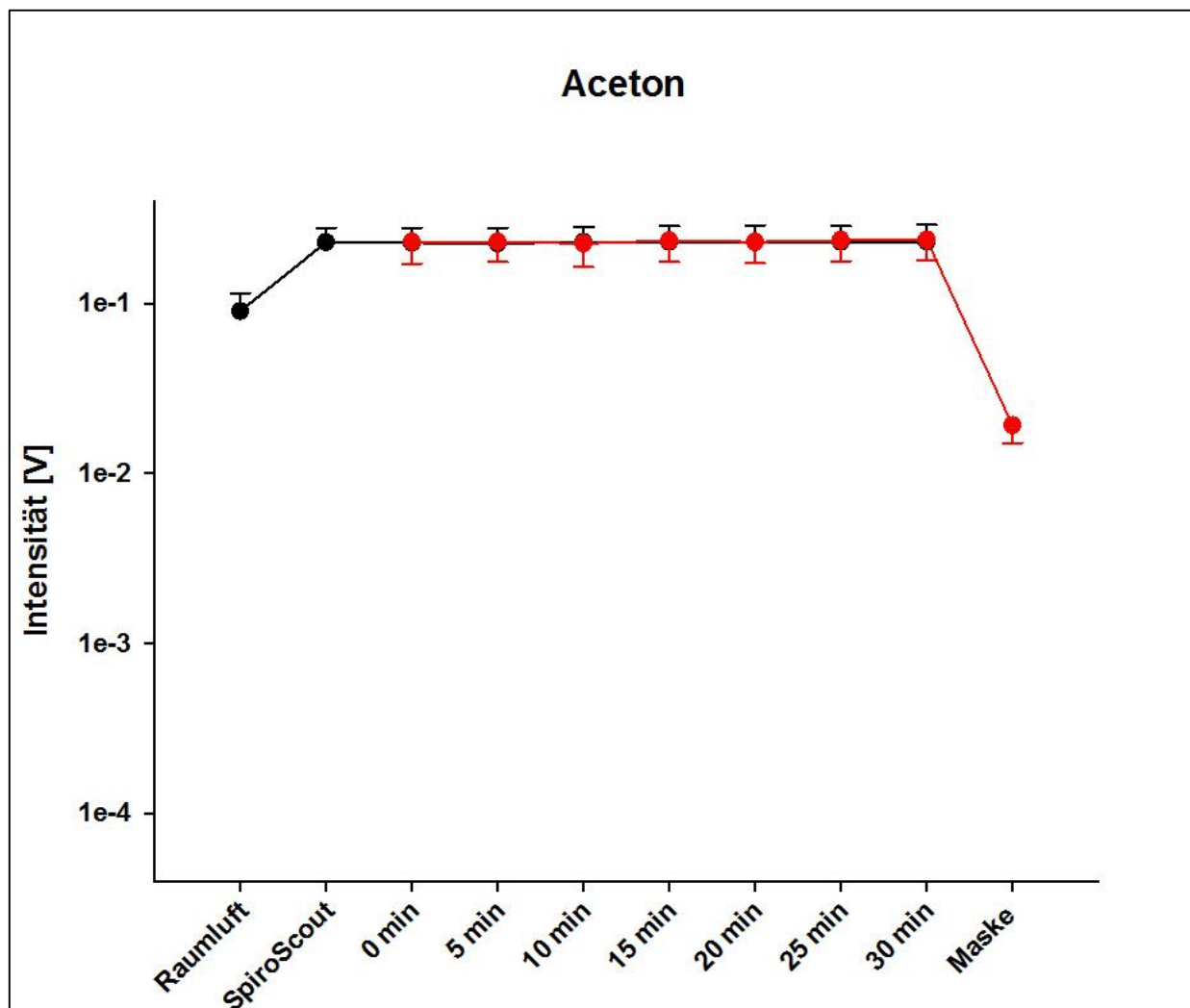
Diese Gruppe umfasst 18 VOCs: Die Ketone 2-Pentanon, 3-Pentanon, 2-Octanon, Aceton, 3-Hydroxy-2-Butanon, die Aldehyde Butanal, Pentanal, das Amin Iso-Propylamin, die Alkohole 1-Butanol, 1-Propanol, das 2-Methylfuran und das Decamethylcyclopentasiloxan. Als die Gruppe charakterisierender Vertreter wird der VOC Aceton aufgeführt. Der Verlauf steigt von 0,097 V in der Raumluft auf 0,24 V bei der Spirometrie an. Die zwei 30 Minuten langen Messungen unter Raumluft und synthetischer Luft zeigen kaum merkliche Veränderungen in der Intensität. Sie unterscheiden sich nur in 0,01 V und verbleiben kontinuierlich bei Werten zwischen 0,22 V und 0,24 V. Bei der Leermessung sinkt die Intensität auf 0,023 V. (Abbildung 18).

In dieser Gruppe wurde kein VOC signifikant reduziert. Der erst-detektierte Alkohol 1-Butanol mit  $RT = 4,80$  ms wurde zu 9,86 % und das zweit-detektierte 1-Butanol mit der  $RT = 4,60$  ms zu 7,96 % ausgewaschen.

Das zweimal detektierte Keton 2-Pentanon gewann um 15,69 % ( $RT = 4,9$  ms,  $1/KO = 0,55$  Vs/cm<sup>2</sup>) und um 28,76% ( $RT = 4,9$  ms,  $1/KO = 0,55$  Vs/cm<sup>2</sup>) an Intensität. 3-Pentanon, das zur gleichen Stoffklasse gehört, nahm einmal in seiner Intensität zu (14,35 %,  $RT = 6,8$  ms,  $1/KO = 0,66$  Vs/cm<sup>2</sup>) und zweimal wurde die Intensität reduziert (-23,56%,  $RT = 4,9$  ms,  $1/KO = 0,55$  Vs/cm<sup>2</sup>) (-52,93%,  $RT = 4,9$  ms,  $1/KO = 0,55$  Vs/cm<sup>2</sup>). Weitere Ketone waren Aceton (-2,66%), 2-Octanon (-20,29%) und 3-Hydroxy-2-Butanon (11,62 %).

2-Methylfuran wird bei einer  $RT = 4,00$  ms und  $1/KO = 0,54$  Vs/cm<sup>2</sup> um 6,15 % reduziert, zeigt aber bei einer  $RT = 3,9$  ms und  $1/KO = 0,72$  Vs/cm<sup>2</sup> keine Reduzierung, sondern nimmt um 18,75 % zu.

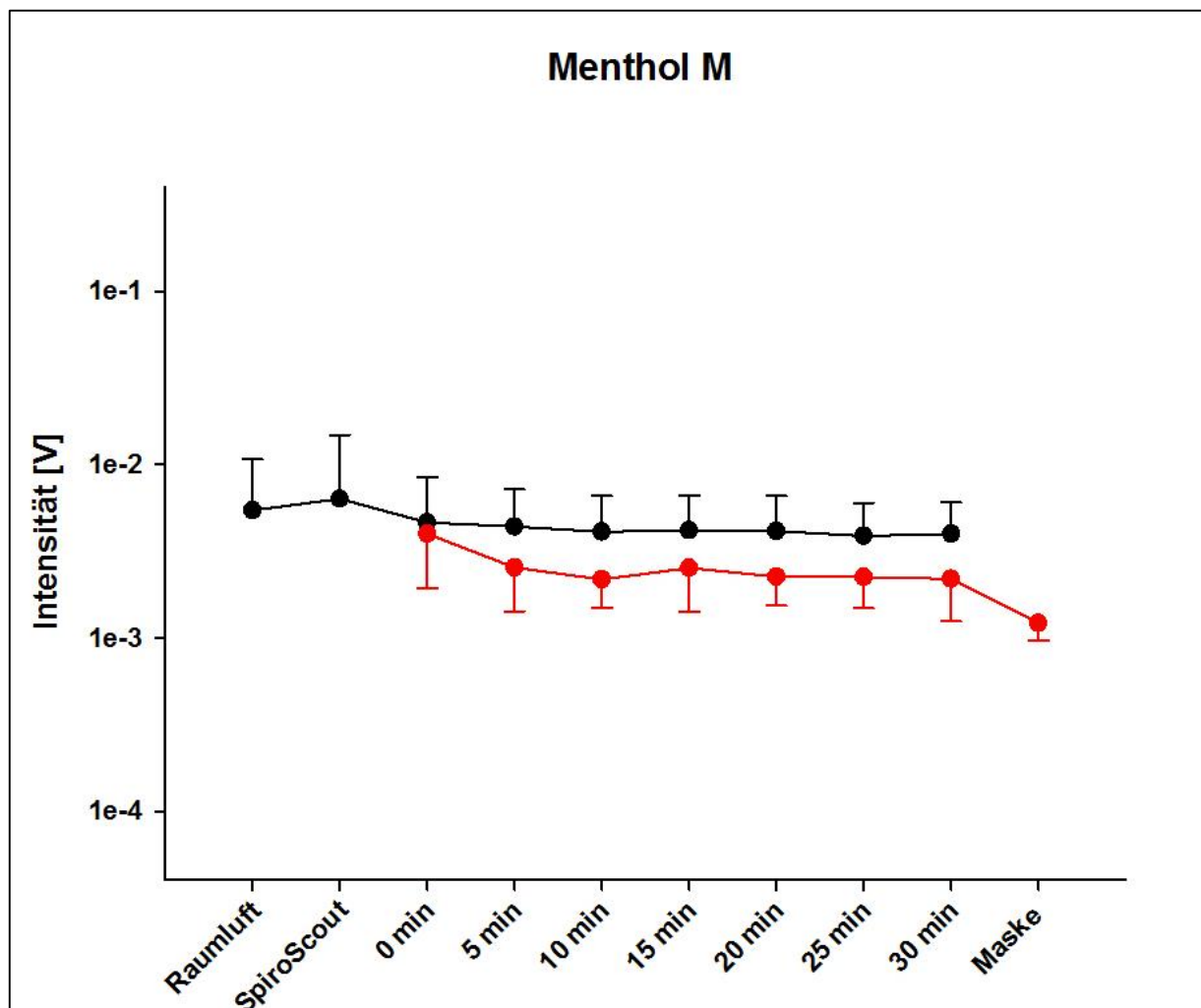
Die Verläufe der anderen 16 VOCs sind im Anhang zu finden.



**Abbildung 18** Intensitätsverlauf der Gruppe 4 am Beispiel Aceton. Der schwarze Verlauf stellt die Intensität des VOCs unter Raumlufbedingungen dar. Der rote Verlauf stellt die Intensität des VOCs unter Zufuhr von synthetischer Luft dar. ( $\pm 95\%$  Konfidenzintervall des Mittelwerts;  $p \leq 0,05$ )

#### 4.2.2.5. Gruppe 5

Diese Gruppe umfasst 9 VOCs. Als charakteristischer Vertreter dieser Gruppe wird Menthol M dargestellt. Die Intensität dieses VOCs lag bei der Bestimmung in der Raumluf bei 0,0067 V. Sie stieg in der Spirometrie auf 0,0072V an. Raumlufmessungen und Messungen bei synthetischer Luft zeigen deutlich differentes Verhalten. Bei der Atmung von Raumluf bewegte sich die Intensität im Bereich von 0,0068 V und 0,0063 V, bei Atmung von synthetischer Luft fiel sie in Bereiche von 0,0067 V und 0,0049 V (Abbildung 19). Menthol M und Terpinolen wurden signifikant reduziert: Die Ausgangsintensität von Terpinolen verringerte sich auf 34,92 %. Menthol M konnte um 45,07 % reduziert werden. In dieser Gruppe wurde zweimal 2-Heptanon gefunden. 2-Heptanon mit der  $RT=10,90$  ms und der  $1/K_0$  Vs/cm<sup>2</sup> von 0,62 konnte zu 43,34 % ausgewaschen werden. 2- Heptanon mit der  $RT= 8,90$  ms und  $1/K_0= 0,62$  Vs/cm<sup>2</sup> nahm um 12,79 % zu. Informationen zu den weiteren VOCs geben die Tabelle 10 und Tabelle 11. Ihre Verläufe finden sich im Anhang.

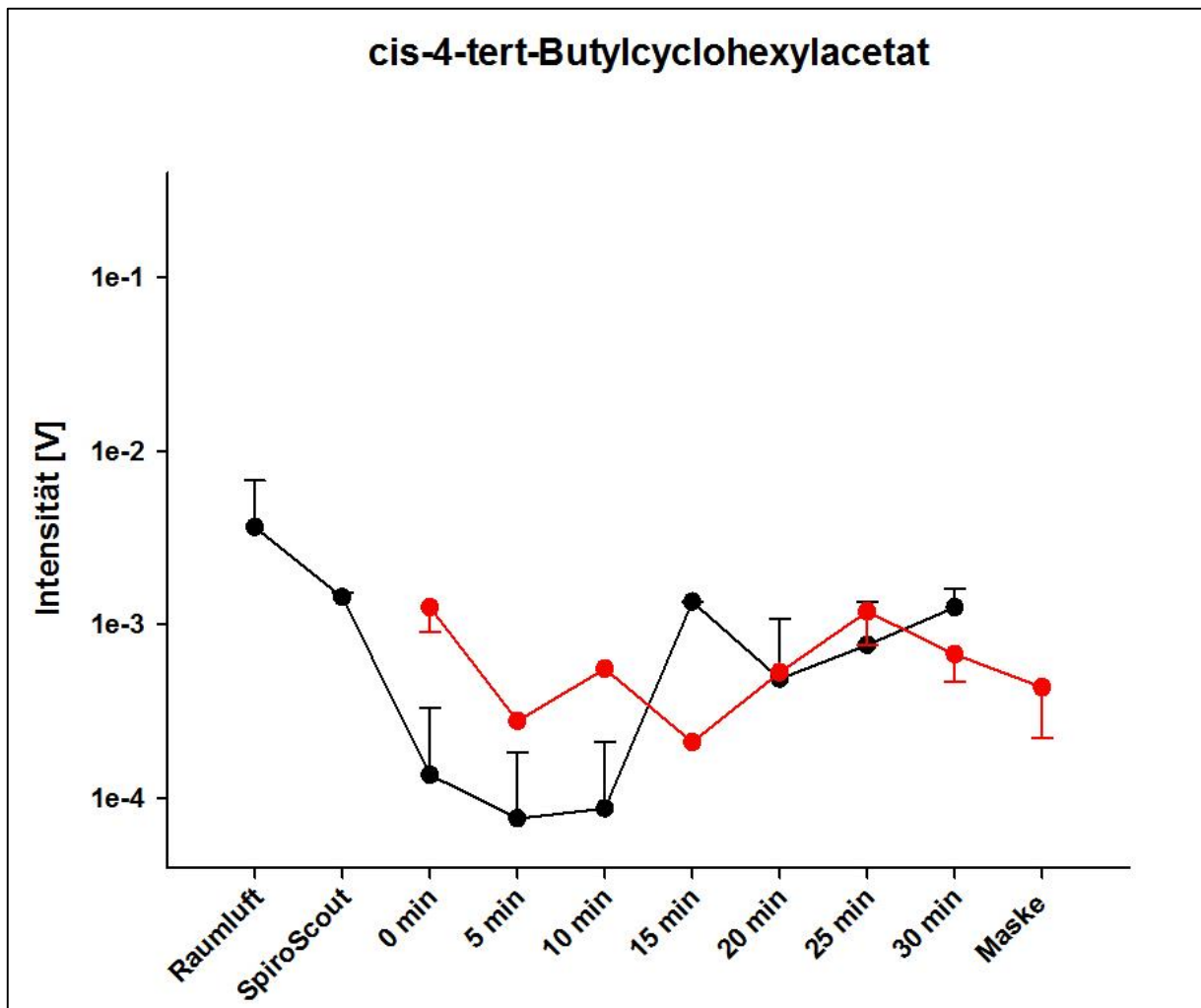


**Abbildung 19** Intensitätsverlauf der Gruppe 5 am Beispiel Menthol M. Der schwarze Verlauf stellt die Intensität des VOCs unter Raumluftbedingungen dar. Der rote Verlauf stellt die Intensität des VOCs unter Zufuhr von synthetischer Luft dar. ( $\pm 95\%$  Konfidenzintervall des Mittelwertes;  $p \leq 0,05$ )

#### 4.2.2.6. Nicht zuordbare VOCs

5 VOCs können keiner der oben genannten Gruppen zugeordnet werden. Auch untereinander zeigen sie kein Verhalten, was die Zusammenfassung in einer eigenen Gruppe erlauben würde. 4 der VOCs sind jeweils von nur einem Probanden ausgeatmet worden. Darunter fallen die Alkohole 1-Hexanol (-2,89 %) und Benzothiazol (-25,68 %) sowie die zwei Aldehyde 4-Ethylbenzaldehyd (-36,63 %) und Heptanal (15,32 %).

Der VOC cis-4-tert-Butylcyclohexylacetat wurde bei zwei Probanden gefunden; für ihn konnte eine Reduzierung von 46,3 % erreicht werden. Zur Veranschaulichung ist cis-4-tert-Butylcyclohexylacetat in Abbildung 20 dargestellt. Die Verläufe der anderen 4 VOCs sind im Anhang zu finden.



**Abbildung 20** Intensitätsverlauf der VOCs die, anhand ihres Verlaufes, nicht einer anderen Gruppe zugewiesen am Beispiel cis-4-tert-Butylcyclohexylacetat. Der schwarze Verlauf stellt die Intensität des VOCs ohne die Gabe von synthetische Luft dar. Der rote Verlauf stellt die Intensität des VOCs unter Zufuhr von synthetischer Luft dar. ( $\pm 95\%$  Konfidenzintervall des Mittelwerts;  $p \leq 0,05$ )

#### 4.2.3. Berechnung eines endtidalen/tidalen Verhältnisses der VOCs der Messreihe "Reduzierung der Raumluft-VOCs"

Unter demselben Gesichtspunkt der zusätzlichen Informationsgewinnung wie bei unserem ersten Versuchsaufbau, wo wir den Quotienten aus den mittleren endtidalen zu den mittleren tidalen VOC-Intensitäten bildeten, verfahren wir auch in der zweiten Versuchsreihe: Wir dividierten die mittlere endtidale Intensität eines VOC in der Spirometriemessung durch seine mittlere Intensität bei der Raumluftmessung unter Maske. Für ein Ergebnis  $> 1,5$  postulierten wir den betreffenden VOC als endogenen und für ein Ergebnis  $< 1,0$  als exogenen Ursprungs. Bei Werten zwischen 1 und 1,5 gingen wir von exogenen VOCs aus.

5 der detektierten VOCs hatten einen Quotienten  $> 1,5$ . Für 37 VOCs lag er bei  $< 1,0$  und 26 VOCs zeigten einen Quotienten zwischen 1,0 und 1,5. Cis-4-tert-Butylcyclohexylacetat hatte mit einem Quotienten von 10,5 den höchsten Wert; Nonanal mit einem Quotienten von 0,13 hatte den niedrigsten Wert. Eine Gesamtübersicht findet sich in Tabelle 11.

Analyt	Auswaschung in Prozent	p-Wert
2-Methylbutylacetat	88,06	0,580
Terpinolen	65,08	<b>0,035</b>
3-Methyl-2-Butanol	48,9	0,438
cis-4-tert-Butylcyclohexylacetat	46,3	0,307
Menthol M	45,07	<b>0,025</b>
Decamethylcyclopentasiloxan	44,37	0,151
2-Heptanon	43,34	0,333
Eucalyptol	38,83	0,248
1,2,4-Trimethylbenzol	38,46	<b>0,008</b>
Benzaldehyd	38,07	<b>0,021</b>
Nonanal	31,58	<b>0,001</b>
Decanal	28,95	<b>0,002</b>
2-Octanol	23,79	0,110
2-Ethyl-capronaldehyd	21,44	0,170
2-Phenylethanol	17,53	0,842
Acetophenon	17,43	<b>0,019</b>
4-Ethyltuluol	15,32	0,444
Heptanal	15,32	0,333
m-Xylol	15,02	0,614
3-Pentanon	14,35	0,818
2-Ethyl-1-Hexanol	11,96	0,742
3-Hydroxy-2-Butanon	11,62	0,216
3-Hydroxy-2-Butanon	11,18	0,257
5-Methyl-3-heptanon	9,99	0,790
1-Butanol	9,86	0,509
Menthon	8,66	0,864
Cyclohexanol	8,4	0,713
Butanal	8,39	0,756
1-Octanol	8,34	0,711
1-Butanol	7,96	0,171
3-Hydroxy-2-Butanon	7,3	0,639
2-Methylfuran	6,15	0,949
1-Butanol	5,58	0,787
1-Pentanol	5,55	0,717
Cyclohexanol	5,3	0,675
2-Hexanon	3,4	0,695
Hexanal	2,08	0,894
Cyclohexanon	1,24	0,983
Pentanal	0,57	0,992
Butanon	-0,33	0,985
Butanal	-0,4	0,957
2,3-Butandiol	-1,31	0,955
Ethanol	-2,18	0,905
Aceton	-2,66	0,753
Benzol	-2,82	0,846
1 Hexanol	-2,89	0,333
Pentanal	-4,26	0,819
1-Butanol	-4,48	0,960
2-Methylpentan	-4,58	0,790
Cyclohexanol	-5,79	0,904

m-Xylol	-6,33	0,960
Iso-propylamin	-8,19	0,915
Iso-propylamin	-8,2	0,802
Cyclohexanon	-10,32	0,675
2-Heptanon	-12,79	0,858
1-Propanol	-14,3	0,586
2-pentanon	-15,69	0,519
2-Methylfuran	-18,75	0,507
2-Octanon	-20,29	0,712
1-Hexanol	-20,52	0,333
3-Pentanon	-23,16	0,481
Cyclohexanol	-24,02	0,699
Benzothiazol	-25,68	0,333
2-pentanon	-28,76	0,659
n-Nonan	-30,48	0,633
4-Ethylbenzaldehyd	-36,31	0,333
3-Pentanon	-52,92	0,613
Nonanal	-55,91	0,333

**Tabelle 10** Alle VOCs der Messreihe "Reduzierung der Raumluft-VOCs" aufgelistet nach der Reduktion ihrer Intensität während der Messung mit den dazugehörigen p-Werten (schwarz: t-Test, rot: Wilcoxon-Mann-Whitney-Test). 7 VOCs werden signifikant reduziert (lila hinterlegt), 32 VOCs werden reduziert (grau hinterlegt), 29 VOCs zeigen Intensitätszunahme (grün hinterlegt).

VOCs		Verhältnis Spirometrie/30 min Raumluft	Auswaschschemata
1	2-Methylbutylacetat	0,59	Gruppe 1
9	1,2,4-Trimethylbenzen	0,27	Gruppe 1
10	Benzaldehyd	0,20	Gruppe 1
11	Nonanal	0,13	Gruppe 1
12	Decanal	0,17	Gruppe 1
13	2-Octanol	0,34	Gruppe 1
15	2-Phenylethanol	0,54	Gruppe 1
24	5-Methyl-3-heptanon	0,43	Gruppe 1
62	Cyclohexanol	0,35	Gruppe 1
14	2 Ethyl-Carponaldehyde	0,74	Gruppe 2
16	Acetophenon	0,84	Gruppe 2
19	m-Xylen	1,06	Gruppe 2
21	2-Ethyl-1-Hexanol	1,06	Gruppe 2
27	Cyclohexanol	1,15	Gruppe 2
29	1-Octanol	1,21	Gruppe 2
31	3-Hydroxy-2-Butanon	0,89	Gruppe 2
34	1-Pentanol	0,71	Gruppe 2
35	Cyclohexanol	0,98	Gruppe 2
37	Hexanal	1,01	Gruppe 2
38	Cyclohexanon	1,02	Gruppe 2
42	2,3-Butanediol	1,03	Gruppe 2
43	Ethanol	1,00	Gruppe 2
45	Benzen	0,98	Gruppe 2
49	2-Methylpentan	1,11	Gruppe 2
50	Cyclohexanol	0,92	Gruppe 2
51	m-Xylen	0,93	Gruppe 2
54	Cyclohexanon	1,04	Gruppe 2
60	1-Hexanol	1,72	Gruppe 2
68	Nonanal	2,28	Gruppe 2
17	4-Ethyltoluol	1,14	Gruppe 3
23	3-Hydroxy-2-Butanon	0,94	Gruppe 3
28	Butanal	1,2	Gruppe 3
36	2-Hexanon	0,95	Gruppe 3
39	Pentanal	0,98	Gruppe 3
40	Butanon	0,84	Gruppe 3
48	1-Butanol	1,01	Gruppe 3
6	Decamethylcyclopentasiloxan	1,19	Gruppe 4
20	3-Pentanon	1,19	Gruppe 4
22	3-Hydroxy-2-Butanon	0,99	Gruppe 4
25	1-Butanol	0,89	Gruppe 4
30	1-Butanol	0,87	Gruppe 4
32	2-Methylfuran	1,00	Gruppe 4
41	Butanal	0,83	Gruppe 4
44	Aceton	1,00	Gruppe 4
47	Pentanal	1,09	Gruppe 4
52	Isopropylamin	1,01	Gruppe 4
53	Isopropylamin	1,13	Gruppe 4
56	1-Propanol	0,82	Gruppe 4



57	2-Pentanon	0,94	Gruppe 4
58	2-Methylfuran	0,84	Gruppe 4
59	2-Octanon	0,99	Gruppe 4
61	3-Pentanon	0,98	Gruppe 4
64	2-Pentanon	0,9	Gruppe 4
67	3-Pentanon	1,09	Gruppe 4
2	Terpinolen	0,78	Gruppe 5
3	3-Methyl-1-Butanol	1,18	Gruppe 5
5	Menthol	1,36	Gruppe 5
7	2-Heptanon	1,11	Gruppe 5
8	Eucalyptol	0,99	Gruppe 5
26	Menthon	1,72	Gruppe 5
33	1-Butanol	0,93	Gruppe 5
55	2-Heptanon	0,5	Gruppe 5
65	n-Nonan	0,69	Gruppe 5
4	cis-4-tert-Butylcyclohexyl- Acetat	10,51	nicht zuordenbar
18	Heptanal	0,92	nicht zuordenbar
46	1- Hexanol	1,14	nicht zuordenbar
63	Benzothiazol	1,11	nicht zuordenbar
66	4-Ethylbenzaldehyd	1,54	nicht zuordenbar

**Tabelle 11** Alle 68 Raumluft-VOCs mit den jeweiligen Quotienten , die sich aus dem Mittelwerten der Intensitäten der Spirometriemessung und den mittleren Intensitäten bei 30 min Raumluft-Atmung über Maske errechnen. Ein Quotient > 1,5 spricht für einen endogenen VOC. Ein Wert <1,5 spricht für einen Raumluft-VOC. Zuordnung der VOCs zu den einzelnen Gruppen mit spezifischem Auswaschverhalten.

## 5. Diskussion

Zielsetzung der vorliegenden Studie war es, unter Einsatz eines sensitiven und spezifischen Verfahrens wie es das MCC/IMS darstellt, eine Antwort auf die Frage zu geben, ob und inwieweit es gelingt durch zwei unterschiedliche Versuchsaufbauten VOCs in der Atemluft von Probanden durch Messung ihrer Intensitäten so zu beurteilen, dass eine Aussage über ihren Ursprung – endogen oder exogen – gemacht werden kann. Als „endogene VOCs“ definierten wir die VOCs, die als Produkte vielfältiger Stoffwechsel- und Umbauprozesse im Organismus über Blut und Alveolen via Lunge ausgeschieden werden und im Exhalat nachweisbar sind. Als „exogene VOCs“ sollten die VOCs der Substanzen gelten, die sich situativ als natürliche organische oder als synthetisch hergestellte Produkte in der den Probanden umgebenden Luft (ambient air) befinden und über die Atemwege in den Organismus gelangen und über diese wieder abgegeben werden.

Der erste Versuchsaufbau sollte diese Frage durch Messungen in zwei unterschiedlichen Phasen der Expiration – tidal und endtidal – beantworten. Mit dem zweiten Versuchsaufbau sollte die Aussage ermöglicht werden, ob es gelänge durch die Atmung von synthetischer Luft über eine festsitzende Maske bei einer Dauer von 30 Minuten exogene VOCs derartig nachhaltig auszuwaschen, dass auf diese Weise ein detektierter VOC einem endogenen oder exogenen Ursprung zugeordnet werden kann.

Die Vorgehens- und Verfahrensweise, wie mit den jeweils 20 Probanden der zwei Untersuchungsgruppen die Messungen durchgeführt wurden, ist in den Einzelheiten im Kapitel 3.4 „Meßaufbau, Meßablauf und Auswertung“ beschrieben.

Der erste Versuchsaufbau führte die Messungen in der tidalen Phase manuell gesteuert und in der endtidalen Phase durch Spirometrie gesteuert durch, was eine weitgehend exakte Trennung dieser beiden Phasen erlaubte. Der tidale Volumenanteil bezeichnet das normale Atemhubvolumen. Der endtidale Volumenanteil definiert sich als der Teil, der am Ende der Ausatmung aus den Atemwegen strömt und maßgeblich aus den Alveolen stammt (King et al. 2010). Es ist allgemeine Ansicht, dass im endtidalen Volumenanteil der Expiration der Anteil der exogenen VOCs - in unserer Studie gemessen als Intensität-, geringer ist als im tidalen Anteil (Miekisch et al. 2008). Nach Angaben des Herstellers des von uns verwendeten Spirometers, der Ganshorn Medizin Electronic GmbH, wird dann das zuverlässigste Ergebnis für die tidale VOC-Bestimmung erzielt, wenn der Proband vier Sekunden ausatmet, was beim Erwachsenen ungefähr 500 ml entspricht. Von diesen 500 ml bleiben 150 ml als Totraumvolumen für die Messung unberücksichtigt und die verbleibenden Volumenanteile in

einer Messung von 4 Sekunden können als „tidal“ angesehen werden. Das ganz am Ende expirierte Volumen repräsentiert dann in seinen wesentlichen Teilen das endtidale Volumen, in dem die endtidalen VOCs gemessen werden. Diese Volumenanteile werden in unserer Studie über die Spirometrie durch Einsatz des Spirocourt der Ganshorn Medizin Electronic GmbH definiert.

Da vor jedem Messzyklus die Probanden zusammen mit dem Untersucher eine längere Zeit zum Zweck der Einweisung in die Verfahrensabläufe und des Einstudierens der Atemtechnik in den Räumlichkeiten des Untersuchungsorts verbrachten, war zu erwarten, dass sich die zunächst in der Raumluft detektierten VOCs auch unter den VOCs im Exhalom der Probanden finden würden. Dies bestätigten unsere Messungen. Alle in der Raumluft detektierten VOCs fanden sich auch im Exhalom sämtlicher 20 Probanden.

Am augenfälligsten ist die sehr hoch gemessene Intensität von Dimethyldisulfid, das ebenfalls einen großen Intensitätsunterschied zwischen den beiden Messphasen aufweist. Dimethyldisulfid gilt als die am häufigsten biogen emittierte Schwefelverbindung (Phytoplankton) exogenen Ursprungs. Bekannt ist seine Bedeutung im Lebersversagen als endogener Analyt. Aber auch beim gesunden Probanden kann Dimethyldisulfid als ein durch anaerobe Bakterien der Mundhöhle freigesetztes und für den Mundgeruch verantwortliches Molekül als Substanz endogenen Ursprungs bewertet werden. Der Quotient aus endtidal zu tidal gemessener Intensität von 1,61 stützt den endogenen Ursprung dieses VOC. Hohe Intensitätswerte wurden auch für das 3-Hydroxy-2-Butanon (Acetoin) - ein Bestandteil vieler Nahrungsmittel (z.B. Butter, verschiedene Kohlsorten und Beerenobst)-, für das 2-Pentanon und für Methanol gemessen. Der Quotient von 1,5 für Acetoin spricht für einen endogenen VOC, was durch die regelmäßige Aufnahme mit der Nahrung auch als wahrscheinlich gelten kann. Der Quotient von 1,08 für das Lösungsmittel 2-Pentanon und 1,13 für Methanol reihen diese Substanzen in die Gruppe der exogenen VOCs ein. Methanol ist die Ausgangssubstanz des Formaldehyds, was als allgegenwärtige Substanz im klinischen Betrieb die hohen Intensitäten von Methanol bei unseren Probanden zu erklären vermag. Aceton und D-Limonen weisen ebenfalls höhere Intensitäten auf. Der Quotient von 0,93 für Aceton spricht für einen exogenen VOC. D-Limonen mit dem Quotienten 1,25 ist Bestandteil vieler natürlich vorkommender Öle (Pfefferminz-, Zitronen-, Orangenöl) sowie –weil preiswert- ein häufig zur Anwendung kommender Duftstoff in einer Vielzahl von Reinigungsmitteln, was für seinen exogenen Ursprung bei höherer Substanzbindung an den Organismus spricht.

Abbildung 10 und Tabelle 6 zeigen, dass 17 der detektierten VOCs im Mittel endtidal eine höhere Intensität aufweisen als tidal und dass für 16 VOCs die Messergebnisse in den

Mittelwerten umgekehrt ausfallen. Bei Überprüfung der Ergebnisse auf signifikante Unterschiede der Intensitäten in den beiden Messphasen konnten wir für keinen der detektierten VOCs eine Signifikanz feststellen. Eine Charakterisierung der VOCs als endogen respektive exogen ist uns deshalb ausschließlich über die Quotientenbildung gelungen. Wird dieser Quotient als Entscheidungskriterium für einen VOC-Ursprung zugrunde gelegt, so kann in unserer ersten Versuchsreihe allein Dimethyldisulfid unzweifelhaft als endogener VOC deklariert werden.

Bei einer kritischen Wertung eines solchen Resultats stellt sich die Frage des Vorliegens eines Verfahrensfehlers. Für die Probanden galt die Anweisung gleichmäßig, ruhig und in einem Zug innerhalb von 4 Sekunden auszuatmen. Es ist nicht auszuschließen, dass der eine oder andere Proband - um über die Dauer von vier Sekunden ausatmen zu können - zu tief „Luft holte“ und somit ein größeres Volumen abatmete als es für das tidale Volumen definiert ist. Nach Schmidt liegt das durchschnittliche tidale Atemzugvolumen bei Erwachsenen zwischen 0,5 und 0,8 Liter (Schmidt et al. 2007). Durch eine Vertiefung der Inspiration und Expiration kann das tidale Volumen auf bis zu 3 Liter ansteigen, was die VOC-Intensität im Sinne einer Abschwächung beeinflussen kann. Da die tidale Probeentnahme nicht durch die Spirometrie gesteuert durchgeführt wurde, sondern manuell zeitgesteuert erfolgte, bleibt uns eine exakte Kenntnis des konkret vorliegenden tidalen Volumens der einzelnen Probanden und die mögliche Einflussnahme auf die VOC-Intensität versagt.

Ein kritisches Briefing unseres Versuchsaufbau führt auch zu der Fragestellung, ob eine zusätzliche Messung des CO<sub>2</sub>-Partialdruckes in der Ausatmung hilfreich in der Bestimmung des Übergangs von tidalen zu endtidalen Volumenanteilen gewesen wäre und unter Zuhilfenahme dieses Parameters exaktere Messwerte hätten erzielt werden können: Nach Schubert et al. werden in klinischen Studien ab einer CO<sub>2</sub>-Konzentration von >3,5 Vol% in der Ausatmung bereits intensivere Werte von endtidalen VOCs gemessen (Schubert et al. 2001). Miekisch et. al weisen dagegen auf die Variabilität des CO<sub>2</sub>-Partialdruckwertes hin, was nach deren Ansicht die exakte Determinierung des Übergangs von tidalen zu endtidalen Volumenanteilen erschwert (Miekisch et al. 2008). Ob und inwieweit diese Überlegungen in praxi weiterführen, müsste durch die Implementierung weiterer Studien gezeigt werden.

Phillips et al. machen, um das Problem der Differenzierung der beiden Volumenanteile zu umgehen, den Vorschlag der Berechnung eines alveolären Gradienten. Hierzu ist eine Bestimmung der Konzentration eines VOCs im endtidalen Volumenanteil und in der Raumluft obligat. Aus den zwei Intensitäten wird der alveoläre Gradient aus folgender Formel berechnet:  $((C_{\text{alveolär}} - C_{\text{Raumluft}}) / C_{\text{Raumluft}})$ . Ist der alveoläre Gradient >1 bedeutet dies eine höhere VOC-

Intensität im endtidalen Volumenanteil mit Rückschluss auf das Vorliegen eines endogenen VOC, während ein Quotient  $<1$  die höhere VOC-Intensität im tidalen Anteil mit dem Vorliegen eines exogenen VOC beschreibt (Phillips et al. 2010).

In Anlehnung an diese Form der Problemlösung einer VOCs-Zuordnung berechneten wir den Quotienten aus den Intensitäten eines VOCs in der endtidalen und der tidalen Atemprobe ( $C_{\text{endtidal}} / C_{\text{tidal}}$ ). Allerdings nahmen wir insoweit eine weitergehende Differenzierung vor, als nicht nur die VOCs  $< 1,0$ , sondern ebenfalls die VOCs  $< 1,5$  als VOCs exogenen Ursprungs definiert wurden (siehe Tabelle 11). Werden die VOCs auf ihre chemische Substanz und deren Bedeutung, Synthese und Vorkommen an Hand einzelner Informationsportale (s.u.) recherchiert, so kann diesem Quotienten eine Aussagekraft hinsichtlich der Differenzierung „endogener VOC - exogener VOC“ nicht abgesprochen werden.

Um die VOCs als chemische Substanzen im Einzelnen näher kennenzulernen und ihre Bedeutung und Rolle in einer durch die organische Chemie geprägten Umwelt zu erfahren, recherchierten wir die Informationsportale von LUMITOS, ehemals „chemie.de“, einem Newsletter für Chemie, Lifesciences, Labor, Pharmakologie, Analytik. Weitere Informationsquellen waren die GESTIS-Stoffdatenbank des Instituts für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (IFA) und das Informationsportal des Umweltbundesamtes in Dessau. Befragt wurde auch das Portal von „The Metabolomics Innovation Centre (TMIC)“, das von verschiedenen Kanadischen Einrichtungen - u.a. der Universität von Alberta – im Internet freizugänglich unterhalten wird. Alle im Einzelnen gemachten Angaben zur Stoffklasse der durch die VOCs repräsentierten Substanzen, zu deren Vorkommen und Verbreitung sowie ihre Bedeutung für Mensch und Umwelt sind diesen Portalen entnommen. Stammen Informationen aus anderen Quellen, so werden deren Autoren namentlich genannt.

2-Ethyl-1-Hexanol, 2-Propanol, 2-Hexanon, 2-Methylpentan, Butanon, Cyclohexanon kommen in Lösungsmitteln von Farbstoffen und Lacken vor. Benzaldehyd ist in Kosmetika vertreten. 4-Ethylbenzaldehyd ist ein Derivat von Benzaldehyd. Butan kommt als Kältemittel im Kühlschrank vor. p-Cymol ist ein aromatischer Terpen-Kohlenwasserstoff, der als Biosyntheseprodukt von Pflanzen an die Umwelt abgegeben wird und damit im Rahmen einer umweltbedingten Exposition auch in der Atemluft anzutreffen ist.

Isopren und Aceton treten bei unseren Messungen tidal und endtidal mit fast gleichen Intensitäten auf. Isopren ist ein ungesättigter Kohlenwasserstoff und das Biosyntheseprodukt vieler Bäume und des Phytoplanktons und somit ubiquitär anzutreffen. Aceton hat in der Humanmedizin seine bekannte Bedeutung bei Entgleisung des Glukose- und Fettstoffwechsel.

Birken et al. und Cope et al. wiesen in ihren Untersuchungen erhöhte Werte für Aceton in der endtidalen Phase der Ausatmung nach (Birken et al. 2006; Cope et al. 2004). Nach King et al. und Lindinger et al. ist Aceton der am häufigsten detektierte VOC in der Atemluft- unabhängig von den bekannten Stoffwechselentgleisungen im Rahmen des Diabetes mellitus (King et al. 2011; Lindinger et al. 1998a). Die gemessenen Intensitäten sind geschlechtsabhängig, unterliegen einem Tagesrhythmus und stehen im Zusammenhang mit der körperlichen Betätigung (King et al. 2012; Konvalina et al. 2012; Schulz et al. 2007). Aceton ist aber auch ein gängiges Lösungs- und Extraktionsmittel, was seine nahezu ubiquitäre Verbreitung erklärt. Alle weiteren detektierten Substanzen sind vornehmlich Substanzen der chemischen Industrie: Lack- und Kunststoffe (Cyclohexanon), Kältemittel in Kühlschränken und Klimaanlage (Pentan), Bestandteile von Kraftstoffen (Nonan, Decan ), Bestandteil von Terpentin (3-Caren), Lösungsmittel und Geruchsstoffe (2-Pentanon, 3-Pentanon, Menthon, D-Limonen, 3-Caren).

Die Fragestellung, ob es mit unserem ersten Versuchsaufbau gelänge durch getrennte Messung der VOC-Intensitäten in der tidalen und endtidalen Phase der Ausatmung eine Aussage über den Ursprungsort der detektierten VOCs zu treffen, konnte auf Grund fehlender Signifikanzen nicht positiv beantwortet werden. Ansatzweise ist uns die Beantwortung dieser Frage aber durch die Bildung des Quotienten aus endtidalen und tidalen Intensitäten gelungen.

Unser zweiter Versuchsaufbau war so konzipiert, dass durch die Atmung von synthetischer Luft über eine Dauer von 30 Minuten Umgebungs-VOCs (exogene VOCs) reduziert, minimiert und im Idealfall vollständig eliminiert werden sollten. Die Einatmung der synthetischen Luft -bei kontinuierlicher Insufflation mit 2 bar in das System- über eine festsitzende Ganzgesichtsmaske und unter Einsatz eines Nichtrückatemventils sollten die Nichtrückatmung bereits exhalierter VOCs garantieren und über die Zeitachse die vornehmlich der Umgebung (ambient air) entstammenden VOCs auswaschen. Indem wir für die in 5-Minuten-Abständen erfolgende Messung innerhalb der Expirationsphase die Zufuhr von synthetischer Luft unterbrechen, vermieden wir das Zustandekommen eines positiv endexpiratorischen Drucks (PEEP) und eine Beeinflussung der Diffusions-Perfusionsverhältnisse der Lunge. Da bisher nur theoretisch spekuliert werden kann, welchen Einfluss veränderte Diffusions-Perfusionsverhältnisse und ein verminderter Rückstrom des venösen Blutes zum rechten Herzen und zur Lunge auf die VOC-Intensitäten nehmen, hielten wir dieses Vorgehen für angeraten.

An Hand unseres Literaturstudiums fanden wir keine Hinweise auf einen möglichen Einfluss von synthetischer Luft auf den Stoffwechsel und der in diesem Rahmen anfallenden endogenen VOCs. Heliox –ein Helium-Sauerstoff-Gemisch- kam in klinischen Studien von Kerckx et al.

zur Anwendung (Kerckx et al. 2009). Als ein inertes den Metabolismus nicht beeinflussendes Atemgas hätte es eine Alternative zu der von uns verwendeten synthetischen Luft sein können. Aufgrund seiner geringen Dichte setzt Heliox jedoch den Atemwiderstand herab und bewirkt dadurch eine stärkere Ventilation der Lunge (Reuben et al. 2004) was möglicherweise bei unserer 30-minütigen Untersuchungsdauer zu einer Hyperventilation mit veränderter Abatmung der VOCs hätte führen können.

Als Basiswerte bestimmten wir vor Beginn der Atmung von synthetischer Luft die Intensitäten der Raumluft sowie -durch die Spirometrie gesteuert- die endtidalen Intensitäten unserer Probanden ohne Maskenaufsatz. Als Vergleichsmessung war eine 30-minütige Atmung von Umgebungsluft über die festsitzende Maske mit Messung der VOC-Intensitäten in 5-Minuten-Abständen vorgeschaltet.

Bei einer Anzahl von 68 detektierten VOCs, einer Fülle von Messergebnissen sowie der Komplexität ihrer organisch-chemischen Zuordnung erschien es uns im Interesse der Übersichtlichkeit angeraten, VOCs, die ähnliches oder gleiches Verhalten während des Auswaschungsprozesses zeigten, jeweils zu einer Gruppe zusammenzufassen, zu analysieren und zu diskutieren.

Zusätzliche Informationen für eine Gruppenzuordnung erwarteten wir – angelehnt an die Quotientenbildung des ersten Versuchsaufbau- von der Bildung des Quotienten aus den über die Spirometrie gesteuerten endtidalen Intensitätsmessungen und den mittleren Intensitäten der VOCs bei Atmung über Maske. Soweit nicht andere Zitatangaben erfolgten, suchten wir für die einzelnen detektierten VOCs Antworten zu Fragen nach chemischer Substanz und Struktur, Synthesort sowie Bedeutung und Wertigkeit für den menschlichen Organismus und seine Umwelt wiederum in den bereits o.a. Informationsportalen.

Die Analyse der Auswaschprozesse an Hand der Intensitätsverläufe erlaubte eine Gruppe von VOCs als „Raumluft-VOCs“ (Gruppe 1) zusammenzufassen. Die VOCs waren hoch in der Raumluft zu detektieren und fielen in der endtidalen Messung durch Spirometrie ab, was als ein erster Hinweis für deren exogenen Ursprung gesehen werden darf. Unter der Maskenatmung mit Raumluft zeigten sich nur geringe Veränderungen, während unter der Atmung von synthetischer Luft die Intensitäten abfielen. 4 der Gruppe zugehörige VOCs wurden unter synthetischer Luft signifikant ausgewaschen (Nonanal, Decanal, 1,2,4-Trimethylbenzol, Benzaldehyd). Die Auswaschungsgrade hatten zwar unterschiedliche Größenordnungen, zeigten aber in der graphischen Darstellung das gleiche tendenzielle Verhalten. Die o.a.

Quotientenbildung wies Werte deutlich kleiner 1 auf, was zusätzlich die getroffene Zuordnung untermauerte.

Werden die detektierten VOCs unter dem Gesichtspunkt „chemische Substanz“ betrachtet, so können sie ausnahmslos als körperfremd, d.h. als nicht vom menschlichen Organismus synthetisierte Substanzen eingestuft werden. Sie sind Bestandteile ätherischer Öle, finden Verwendung als Duftstoffe in Parfümen, als Aromastoffe in Getränken und Süßwaren (Nonanal, Decanal). 2-Octanol kommt in Schmierstoffen, Kraftstoffen und Lacken vor. Trimethylbenzol kann als ein Aromastoff im Kaffee nachgewiesen werden (Stoll et al. 1967), wird aber auch als Bestandteil des Tabaks sowohl bei Rauchern und Passivrauchern nachgewiesen. Bei unseren Probanden, die im äußersten Falle als Passivraucher bezeichnet werden können, wurden die als typische „Raucher-VOCs geltenden Substanzen nicht detektiert. Nach Buszewski et al., Jareno-Esteban et al. und Jordan et al. sind dies Acetonitril, verschiedene Furane, 2-Butanon, Octan und Decan (Buszewski et al. 2009; Jareño-Esteban et al. 2013; Jordan et al. 1995).

Benzaldehyd ist ebenfalls ein vielfach verwendeter Geruchs- und Geschmackstoff in der Lebensmittelindustrie. Er findet sich zudem häufig als Bestandteil von Kosmetika sowie von Benzin- und Dieselmotorkraftstoffen. Dieser Aldehyd kann auch von Bakterien freigesetzt werden (Schulz et al. 2007). In einer Studie von Schmidt et al., wo vergleichend auf VOCs der Raumluft, des Atems und des Bluts hin untersucht wurde, konnte Benzaldehyd im Blut nicht nachgewiesen werden (Schmidt et al. 2004).

In der Gruppe 2 wurden die VOCs zusammengefasst, die in der Raumluft mit hoher Intensität gemessen wurden, dann aber – im Gegensatz zur Gruppe 1 – in der Spirometrie einen weniger starken Intensitätsabfall zeigen und in der Auswaschung mit synthetischer Luft bei anfangs niedrigeren Intensitäten sich langsam wieder den Werten der Atmung mit Raumluft nähern und im Weiteren konstant auf gleichem Niveau bleiben (Abbildung 16).

Wir interpretierten dieses Profil als das Verhalten von VOCs, die der Umgebung (ambient air) entstammen, eingeatmet werden und vom Organismus nach temporärer Speicherung verzögert wieder abgegeben werden. Van den Aardweg et al. und Schubert et al. weisen darauf hin, dass keine lineare Korrelation zwischen der Intensität eines im Körper zwischengespeicherten VOC und seiner Intensität in der Ausatmung hergestellt werden kann (van den Aardweg et al. 2001; Schubert et al. 2005). Dieses Phänomen erklärt sich u.E. damit, dass mehrere unterschiedliche Kompartimente als Speicherorte für einen VOC im Organismus dienen und diese für denselben VOC eine unterschiedliche Kinetik aufweisen können.



9 Alkohole, 3 Kohlenwasserstoffe, 3 Aldehyde und 4 Ketone hatten den für Gruppe 2 charakteristische Verlauf. Die Alkohole 2,3-Butandiol, 2-Ethyl-1-Hexanol, 1-Pentanol, 1-Hexanol, Cyclohexanol, 1-Octanol werden als Kosmetikprodukte des täglichen Bedarfs wie z.B. als Bestandteile in Haarwaschmittel, Rasierschaum, Zahnpasta verwendet. Sie sind als Desinfektionsmittel und in Lösungsmitteln zu finden. Da sie auch im medizinischen Alltag zur Anwendung kommen, kann dann auch den Nachweis bei unseren Probanden als weitgehend Angehörige medizinischer Berufsgruppen erklären.

Die Kohlenwasserstoffe m-Xylen (m-Xylol), Benzen (Benzol) und 2-Methylpentan sind wichtige Ausgangsprodukte aus Erdöl und Steinkohlenteer zur Herstellung von Kunststoffen und weisen als Emissionen aus dem KFZ-Verkehr ein ubiquitäres Vorkommen auf. Ebenso finden sich die detektierten Aldehyde in Duftstoffen, Farben, Säften, als Bestandteile von Arzneimitteln (Nonanal) oder des Linoleums (Hexanal). Nonanal fällt in dieser Gruppe durch einen sehr hoch errechneten Quotienten von 2,28 auf. Eine Erklärung hierfür kann eine regelmäßige Einnahme von Arzneimitteln sein, die diese Substanz beinhalten. Diese wird dann gleich einem endogenen VOC über die Atmung ausgeschieden.

Auf Grund seines Auswaschprofils wurde auch Ethanol in unserer Studie der Gruppe 2 zugeordnet. Ethanol ist ein Produkt der alkoholischen Gärung. Die Konzentration von Ethanol im Blut sowie die detektierte Intensität in der Atemgasanalyse sind vor allem abhängig von der Menge des exogen zugeführten Ethanols. Aber nicht allein der Alkoholkonsum bestimmt die Blutkonzentration bzw. die gemessene VOC-Intensität, auch die Art der Ernährung hat darauf einen bestimmenden Einfluss (Lindinger et al. 1997; Smith, Spanel, and Davies 1999; Turner, Spanel, and Smith 2006). Ethanol ist in Probanden zu finden, die 24 Stunden zuvor keinen Alkohol getrunken hatten (Diskin et al. 2003). Besonders nach dem Frühstück können erhöhte Ethanolwerte nachgewiesen werden. Die dann in der Regel höhere Kohlenhydratzufuhr im Vergleich zu den anderen Mahlzeiten des Tages wird hierfür verantwortlich gemacht (Bikov et al. 2013). Ethanol ist somit auch als ein endogener VOC einzustufen (Phillips et al. 1999; Smith et al. 2010). Daneben sind eine Vielzahl apathogener als auch pathogener Bakterien wie *Staphylococcus aureus* oder *Pseudomonas aeruginosa*, die den Organismus besiedeln, als Ethanol bildende Bakterien bekannt (Cope et al. 2000; Filipiak et al. 2012b).

Die Erklärung für die hohe Raumluftintensität von Ethanol in unserer Studie ist aber mit hoher Wahrscheinlichkeit seine Verwendung als Lösungs- und Desinfektionsmittel in den Räumen eines medizinischen Labors, was Ethanol unter diesen Voraussetzungen das Profil eines exogenen Raumluft-VOC verleiht.

Der Gruppe 2 wurde auch das Keton 3-Hydroxy-2-Butanon (Acetoin) zugeordnet. Diese Substanz nimmt insofern eine besondere Stellung ein, als sie im Zusammenhang mit ihrem wahrscheinlich monomeren und polymeren Auftreten verschiedene Retentionszeiten und Ionenmobilitäten aufweist. Warum aber diese zwei VOC-Varianten ein unterschiedliches Verhalten in ihren Intensitäten über den Messzeitraum aufweisen und deshalb zwei verschiedenen Profilgruppen (Gruppe 2 und 3) zugeordnet werden müssen, kann vorerst nur mit der großen Variabilität in biologischen Systemen hinreichend erklärt werden. Enterobakterien und Milchsäurebakterien sind in der Lage diese Substanz zu bilden. Unter anaeroben Bedingungen kann sie akkumulieren, während bei aeroben Verhältnissen der vollständige Abbau zu CO<sub>2</sub> erfolgt (Silbersack et al. 2006; Xiao et al. 2014).

Als Aromastoff ist Acetoin natürlicher Bestandteil von Früchten, Kohlarten und Weizen und damit bei Aufnahme dieser Nahrungsmittel auch als exogener VOC zu sehen. Zusammenfassend haben wir die detektierten VOCs der Gruppe 2 unter den gegebenen Voraussetzungen unserer Studie als Analyte exogenen Ursprungs definiert.

Gruppe 3 fasst die VOCs zusammen, die während der Auswaschphase mit synthetischer Luft konstante Intensitäten und keine Abweichung von den Intensitäten zeigen, die über die 30-minütigen Messungen mit Raumluftatmung über Maske ermittelt wurden. Dieses Verhalten spricht für VOCs endogenen Ursprungs, wohingegen der Quotient von  $1.01 \pm 0.11$  eher für einen exogenen Ursprung plädieren ließe. Die Betrachtung der einzelnen Substanzen zeigt, dass sie ausnahmslos Produkte der chemischen Industrie sind. Sie werden als Lösungsmittel für Kunststoffe, Harze und Lacke gebraucht. Ebenfalls werden sie in Form von Emissionen des KFZ-Verkehrs (4-Ethyltuluol) angetroffen.

Das zweimal detektierte Keton 3-Hydroxy-2-Butanon, das wir zuvor bereits der Gruppe 2 zugeteilt hatten, zeigt –mutmaßlich auf Grund seines monomeren-polymeren Auftretens- auch das Auswaschprofil der Gruppe 3.

Da die detektierten VOCs der Gruppe 3 ihrer chemischen Substanz nach in toto exogenen Ursprungs sind, aber dennoch keine Tendenz zur Auswaschung zeigen, lässt vermuten, dass sie im Körper gespeichert werden und bei einer langsamen Kinetik der Freisetzung aus dem Speicherort in dem durch unsere Studie vorgegebenen Zeitfenster ohne messbare Auswaschung bleiben.

Die der Gruppe 4 zugeordneten VOCs sind charakterisiert durch eine geringe Intensität in der Raumluft, einem deutlichen Zuwachs bei der spirometrischen Messung und nachfolgenden

konstanten Intensitäten während der Messungen mit Raumluft und synthetischer Luft über Maske. Solch ein Profil spricht für VOCs endogenen Ursprungs. Aceton zeigte neben anderen Substanzen dieses die Gruppe 4 charakterisierende Verhalten. Lindinger et al. weisen darauf hin, dass Aceton auch beim Gesunden in einer durchschnittlichen Konzentration von  $10^{-6}$  Volumenprozenten in der Atemluft nachgewiesen wird (Lindinger et al. 1998a). Die Bedeutung von Aceton als Ketonkörper im physiologischen wie auch im entgleisten Stoffwechsel sowie seine Ausscheidung über die Atmung sind bekannt. Aceton ist aber ebenfalls ein industriell in großem Maßstab hergestelltes Lösungsmittel und kann somit auch als exogener VOC eingeordnet werden. Der bei unseren Probanden errechnete Quotient von 1,02 ließe auch eher den Schluss für Aceton als ein exogener VOC zu. Da die Kohorte unserer Probanden sich teilweise aus klinischen Labors rekrutierte, wo diese Substanz in häufigem Gebrauch ist, kann diese Folgerung nicht gänzlich ausgeschlossen werden. Die Tatsache, dass Auswaschprofil und Quotient sich nicht zwingend kongruent verhalten, macht deutlich, wie schwer eine VOC-Zuordnung sich in einzelnen Fällen darstellt und dass eine endgültige Aussage ohne Berücksichtigung aller Umstände im Ungefähren bleibt. In diesem Zusammenhang stellt sich auch die Frage, wie es sich mit originär exogenen VOCs verhält, deren Substanzen über Haut und Schleimhäute, über Magen-Darm-Trakt und Lunge als Nahrungsmittel, Medikamente, Kosmetika oder Produkte der Körperhygiene in den Organismus gelangen. Werden diese Substanzen in Abhängigkeit ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften in Kompartimenten des Körpers gespeichert werden oder an Proteine gebunden, so kommt die Kinetik ihrer VOCs der Kinetik der endogenen VOCs im Hinblick auf den Nachweis im Exhalom sehr nah.

Das detektierte Iso-Propylamin gilt als Ausgangsprodukt für die Synthese verschiedener Herbizide – unter anderen auch des umstrittenen Herbizids Glyphosphat. Seine Aufnahme in den Organismus erfolgt über Haut und Schleimhäute und sein hydrophiler Charakter erlaubt eine lange Speicherung (Rissoli et al. 2016). Das 2-Methylfuran wird im Zigarettenrauch und als eine von Schimmelpilzen abgesonderte Substanz nachgewiesen (Mochalski et al. 2013). Das Decamethylcyclopentasiloxan wird industriell in sehr großen Mengen für die Herstellung von Deodorants, Haarpflegemittel und sonstige Reinigungsmittel synthetisiert und soll 2020 wegen seiner nachgewiesenen Bioakkumulierbarkeit besonderen restriktiven Vorschriften unterworfen werden.

Die Ketone der Gruppe 4 sind Lösungsmittel (2-Pentanon, 3-Pentanon). Das 2-Octanon ist als Aromastoff Bestandteil vieler Früchte und Inhalt von Nahrungsmitteln wie Brot, verschiedener Käsesorten, von Kaffee und Tee sowie Haselnüssen. Auch 1-Butanol findet sich in vielen Nahrungsmitteln. In geringen Mengen wird es von *Staphylococcus aureus* produziert. Da das

grampositive Bakterium bei 70 Prozent eines untersuchten Kollektivs die oberen Atemwege besiedelt, ist die kontinuierliche Abatmung von 1-Butanol als VOC naheliegend (Filipiak et al. 2012a)

Das Phänomen, dass die VOCs der Gruppe 4 in der Umgebungsluft unseres Labors nur in geringster Konzentration gemessen wurden und bei deutlich erhöhter Intensität über die gesamte Atmungsphase mit synthetischer Luft keine Auswaschung zeigen, lässt den Schluss zu, dass sie als originär exogene VOCs im Organismus gespeichert oder gebunden vorliegen.

VOCs der Gruppe 5 wiesen bei der Raumluftmessung unseres Untersuchungslabors Intensitäten auf, die sich über den Messzyklus der 30-minütigen Raumluftatmung über Maske weitgehend konstant verhalten. Mit Beginn der Atmung von synthetischer Luft fällt die Intensität aber sofort und deutlich ab. Über den weiteren Beobachtungszeitraum sind dann keine oder nur gering fallende Intensitäten festzustellen. Der errechnete Quotient lag bei  $1.03 \pm 0.03$ . Dieser Wert sowie das beschriebene Profil klassifiziert die VOCs dieser Gruppe als exogene VOCs, die -in der Umgebungsluft vorkommend- in einer ersten Phase schnell über die Lunge reduziert werden. In der sich anschließenden Phase weisen sie aber eine Kinetik auf, die eine langsame Freisetzung aus Bindungen an Strukturen des Organismus vermuten lassen.

Das Monoterpen-Keton Menthon ist ein Oxidationsprodukt des Menthols, das sich als ätherisches Öl nicht nur in den Minzgewächsen, sondern auch in einer großen Zahl von Gewürzpflanzen (Majoran, Oregano, Basilikum, Salbei, Thymian) findet. Der Monoterpen-Alkohol Menthol ist als synthetisches oder aus Pflanzen extrahiertes Substrat ein vielfach verwendeter Duft- und Aromastoff in der Körper-, Mund- und Zahnpflege und wirkt am Menthol-Kälterezeptor als Analgetikum. Ähnlich verhält es sich mit Terpinolen als einem ätherischen Öl der Petersilie. Als ein industrielles Produkt ist es Inhaltsstoff von Möbelpolituren und Schuhcremes. Pflanzen geben im Rahmen ihres Absterbeprozesses Terpinolen an die Umwelt ab (Vautz et al. 2010). Eukalyptol (Cineol) aus dem Öl des Eukalyptusbaumes ist ein beliebter Aromastoff in der Parfümherstellung und wird seiner campherartigen Wirkung wegen als Therapeutikum der Atemwege eingesetzt. N-Nonan ist Bestandteil von Kraftstoffen (Zanjani et al. 2006). Durch deren hohes Kontaminationpotential wird n-Nonan häufig in Böden und Gewässern nachgewiesen (Farajzadeh et al. 2002; Li et al. 2016). Auffällig in unserer Studie war, dass n-Nonan als einziges Alkan detektiert wurde, während andere Autoren die kurzkettigen Alkane wie Methan, Ethan und Pentan als ständige Komponenten der Ausatemluft detektierten (Mürtz et al. 2008).

Die VOCs der Gruppe 5 lassen sich zusammenfassend als exogene VOCs mit zwei unterschiedlichen Kinetiken charakterisieren. Das mag hinreichend damit erklärbar sein, dass sie nach ihrer Aufnahme durch den Organismus konzentrationsabhängig teilweise an körpereigenen Strukturen binden. Der nicht gebundene Teil wird schnell exhaliert, was sich als sofortiger Intensitätsabfall dokumentiert. Der gebundene Anteil wird langsam über einen längeren Zeitraum freigesetzt, d.h. die Intensitäten verbleiben in dem vorgegebenen Beobachtungszeitraum auf konstantem Niveau.

5 VOCs konnten keiner Gruppe zugeordnet werden. Da sie jeweils nur bei einem einzelnen Probanden nachgewiesen wurden, ist eine quantitative Bewertung dieser VOCs u.E. nicht zulässig. Zu den 5 VOCs gehört der Aldehyd Heptanal. Heptanal ist bei unserer Messung der einzige VOC, dessen Intensität bei der Leermessung der Maske ansteigt. Es muss daraus geschlossen werden, dass er aus dem Material der Ganzgesichtsmaske stammt. Cumeras wies in einer Untersuchung nach, dass aus einem Kunststoffprodukt sich mehr als 10 verschiedene VOCs detektieren lassen (Cumeras et al. 2012). Die einzelnen dort untersuchten Kunststoffprodukte waren ein Endotrachealtubus, eine Larynxmaske, ein Ventilator sowie ein Konnektorstück. Heptanal, das nur in einem Fall detektiert wurde, kommt in Farben und Lacken sowie natürlicherweise im Rizinusöl vor. Die Verunreinigung der Maske über Haut oder Hände des untersuchten Probanden erscheint uns deshalb als die wahrscheinlichste Erklärung. Für die verbleibenden anderen 4 VOCs gelten folgende Aussagen: 1-Hexanol (Mannitol) wird als Süßungsmittel verwendet. Benzothiazol kommt in der Gumminindustrie zur Anwendung. 4-Ethylbenzaldehyd ist ein Zusatzstoff in Zigaretten. 4-tert-Butylcyclohexyl-Acetat findet sich als Duftstoff in Kosmetika, Lufterfrischer, Reinigungsmitteln und Wachsen wieder.

### **5.1. Gegenüberstellung der Messreihen**

Werden die zwei Versuchsaufbauten und deren Ergebnisse vergleichend einander gegenübergestellt, so fällt als erstes die unterschiedliche Anzahl der detektierten VOCs auf. Konnten im ersten Versuchsaufbau 33 VOCs detektiert werden, so waren es im zweiten mit der Auswaschung durch synthetische Luft 68 VOCs. Hierbei muss allerdings berücksichtigt werden, dass einige VOCs mehrfach –mit hoher Wahrscheinlichkeit durch Wasserstoffbrückenbildung bei hoher Analytkonzentration (Heptner et al. 2014) – bei den Untersuchungen mit synthetischer Luft detektiert wurden, so dass im Gesamtergebnis 48 verschiedene chemische Substanzen analysiert wurden. Besonders im zweiten Versuchsaufbau traten VOCs derselben chemischen Substanz in verschiedenen Peaks innerhalb des IMS-Spektrums auf. Dort stehen 14 VOCs mit mehrfachen Peaks maximal 2 VOCs (Cyclohexanol,

Nonan) im ersten Versuchsaufbau mit jeweils 2 Peaks gegenüber. Auch finden sich einzelne VOCs der ersten Versuchsreihe nicht im zweiten Messaufbau der Auswaschung. Dimethyldisulfid und Methanol konnten dort überraschenderweise nicht detektiert werden. Auch Isopren, das einigen Autoren als obligat im Exhalom bezeichnen, fehlt im zweiten Versuchsaufbau (Miekisch et al. 2004; O'Hara et al. 2009).

Im Vergleich der Ergebnisse der zwei Versuchsaufbauten kann dennoch mit der Methodik der Auswaschung mittels synthetischer Luft eindeutig ein Mehrwert erzielt werden. Für 7 VOCs (Terpinolen, Menthol M, 1,2,4-Trimethylbenzol, Benzaldehyd Nonanal, Decanal, Acetophenon), d.h. für annähernd 14 Prozent der detektierten VOCs konnten wir bei diesem Vorgehen eine Reduzierung erreichen, die sich als statistisch signifikant erwies. Im ersten Versuchsaufbau konnte demgegenüber für keinen der detektierten VOCs eine Signifikanz nachgewiesen werden. Allerdings darf nicht unberücksichtigt bleiben, dass es bei der Auswaschmethode eines wesentlich größeren zeitlichen Aufwandes bei einer größeren Anzahl von Einzelmessungen bedarf. Die Frage, ob eine Ausweitung der Auswaschphase über die Zeitspanne 30 Minuten hinaus, in größerem Umfang zur Auswaschung von VOCs mit statistisch nachweisbarer Signifikanz geführt hätte, beantworten Morita et al. für das n-Pentane: Nach 30 Minuten Atmung von gereinigter Luft nahm n-Pentane zu mehr als 70 Prozent in der Ausatmung ab, weitere 30 Minuten zeigten dann keinen weiteren Konzentrationsabfall von Bedeutung (Morita et al. 1986). In Kenntnis dieser Ergebnisse wählten wir das 30-Minuten-Zeitfenster, wenn nach Vorgaben der Literatur für exogene VOCs (ambient air) innerhalb dieses Zeitraums die deutlichsten Intensitätsveränderungen zu erwarten sind. Dies bestätigen dann auch die Messergebnisse der VOCs, die in den Gruppe 1 und 5 zusammengefasst wurden und ausnahmslos als exogene VOCs (ambient air) deklariert werden konnten. Die VOCs der Gruppe 1 ließen sich kontinuierlich über die Zeit auswaschen und der endtidal-tidale Quotient zeigte für keinen der einzelnen VOCs einen Wert größer als 0,7. In Gruppe 5 hingegen kam es sofort zu Beginn der Auswaschung zu einem deutlichen Intensitätsabfall, der sich dann im weiteren Verlauf aber nicht fortsetzte, sondern einen geradezu stabilen Intensitätsverlauf annahm. Diese Phänomen drückt sich auch zum Teil in den Quotienten aus, die bei einigen der VOCs dieser Gruppe deutlich größer als 1 sind: Menthol M hat den Quotienten von 1,36, Menthon einen Quotienten von 1,72. Als Erklärung für das Auswaschverhalten der Gruppe 5 muss dann gelten, dass die durch den VOC definierten Substanzen trotz ihres exogenen Ursprungs in engerer Bindung zum Organismus stehen und nach anfänglichem steilen Intensitätsabfall bei langsamer Kinetik kontinuierlich aus dieser Bindung freigegeben werden. Mögliche Bindungsstrukturen müssen somit in Kompartimenten der Lunge und Atemwege definiert oder in Strukturen

jenseits der Blut-Alveolarschranke gesucht werden. Auch die unterschiedliche Gasverteilung in der Lunge mit einer differierenden Ventilation der einzelnen Lungenareale könnten ein solches Verhalten erklären.

## **5.2. Schlussfolgerung**

Fasst man die Ergebnisse unserer Untersuchungen in ihren wesentlichen Aussagen zusammen, so lassen sich die folgenden Schlussfolgerungen formulieren:

1. Der Vergleich von tidal und endtidal gemessenen Intensitätswerten eines detektierten VOC erlaubt auf Grund fehlender Signifikanzen keine valide Aussage über dessen endogenen respektive exogenen Ursprung.
2. Der Quotient aus endtidal zu tidal gemessenen Intensitäten beruht auf der Annahme, dass die Intensitäten eines exogenen VOC tidal höher gemessen werden als endtidal und die Größe des Quotienten ( $<1,5$ ) daher eine Aussage über seinen exogenen Ursprung erlaubt. Diese Beurteilung ist u.E. nur dort zulässig, wo exogene VOCs situativ auftreten, eingeatmet und schnell wieder abgeatmet werden ohne nachhaltige Bindung oder Speicherung im Organismus. Wo das nicht der Fall ist, hat der Quotient keine oder nur eine eingeschränkte Aussagekraft. Deutlich wird dies in den unterschiedlichen Auswaschprofilen von exogenen VOCs in der zweiten von uns durchgeführten Messreihe bei Atmung von synthetischer Luft. Sie zeigen, dass exogene VOCs voneinander abweichende Ausscheidungskinetiken über die Lunge aufweisen, was sich am ehesten mit den vielfältigen Unterschieden in ihrer Molekülstruktur und mit ihren jeweiligen physikalisch-chemischen Eigenschaften begründen lässt.
3. Durch die Atmung von synthetischer Luft über einen Zeitraum von 30 Minuten gelingt für eine Reihe von definierten VOCs die Reduzierung im Exhalat. Für 7 Analyte konnte eine statistische Signifikanz nachgewiesen werden. Diese Analyte wurden mehrheitlich den Gruppen 1 und 5 zugeordnet. Die beiden Gruppen sind charakterisiert durch eine Reduzierung ihrer VOCs, wobei sich die Profile aber deutlich unterscheiden. Hinreichend begründen lässt sich dieses Verhalten damit, dass Analyte mit geringer oder nicht vorhandener Bindung an Strukturen des Organismus eine schnellere Ausscheidungskinetik über die Lunge aufweisen. Einem Analyten dagegen, der sich als lipophil erweist, muss durch seine Affinität zum Fettgewebe eine so langsame Kinetik unterstellt werden, dass innerhalb eines begrenzten Messzeitraums keine oder nur geringe Intensitätsveränderungen festzustellen sind. Eine statistische Signifikanz kann somit hierfür auch nicht erwartet werden. Ebenfalls hat dann auch der Quotient aus

endtidaler zur mittleren Ausatemungsintensität für VOCs solchen Profils keinen prognostischen Aussagewert in Bezug auf einen möglichen exogenen oder endogenen Ursprung.

4. Das Exhalom gesunder Probanden wird dominiert von exogenen VOCs. Werden die in unserer Studie mit der IMS-MCC-Technologie detektierten Analyte im Hinblick auf chemische Substanz, Struktur, Synthese, Vorkommen und Verbreitung auf den verschiedenen Plattformen nationaler und internationaler Einrichtungen recherchiert, so können diese Substanzen -und mithin die sie repräsentierenden VOCs- überwiegend als Produkte der chemischen Industrie (Kosmetika, Medikamente, Lösungsmittel), als Bestandteile unterschiedlichster Nahrungsmittel und Stoffe der pflanzlichen Umwelt konkretisiert werden. Daneben werden aber auch einige dieser VOCs als endogene Produkte des Stoffwechsels - sowohl des Organismus als auch der physiologischerweise oder pathogen den Organismus besiedelnden Bakterien- nachgewiesen. Eine Differenzierung zwischen den VOCs endogenen und exogenen Ursprungs durch die von uns gewählten Versuchsaufbauten erweist sich dort als schwierig, wo exogene VOCs mit Nahrungsmittel, Kosmetika oder Medikamenten durch deren täglichen Gebrauch in den Organismus gelangen und dort verschiedenen Resorptions- und Bindungsmechanismen unterworfen sind. Als eine wesentliche Voraussetzung, um diese Problematiken aufzulösen, bedarf es umfangreicherer Kenntnisse über die komplexen Stoffwechselvorgänge beherrschenden Analyte. Metabolomik und Exhalomforschung haben hier im Zusammenwirken ein großes innovatives Potential.



## 6. Literaturverzeichnis

- van den Aardweg et al. 2001. „Estimation of the VA/(Q+VTIS) distribution from single-breath alkane uptake.“ *IEEE transactions on bio-medical engineering*.
- Amann et al. 2014. „The human volatilome: volatile organic compounds (VOCs) in exhaled breath, skin emanations, urine, feces and saliva.“ *Journal of breath research*.
- Antoniou, Sophia et al. 2019. „The potential of breath analysis to improve outcome for patients with lung cancer“. *J Breath Res*.
- Armenta et al. 2011. „A review of recent, unconventional applications of ion mobility spectrometry (IMS).“ *Analytica chimica acta*.
- Australian Government. 2009. „Npi Volatile Organic Compound Definition and Information“. *Fuel*.
- Baumbach. 2009. „Ion mobility spectrometry coupled with multi-capillary columns for metabolic profiling of human breath.“ *Journal of breath research*.
- Baumbach et al. 1999. „Spectrometry : Arriving On Site and Moving Beyond a Low Profile“. *Applied Spectroscopy*.
- Baumbach et al. 2006. „Ion mobility spectrometry to detect lung cancer and airway infections“. *Spectroscopy Europe*.
- Baumbach et al. 2011. „Significant different volatile biomarker during bronchoscopic ion mobility spectrometry investigation of patients suffering lung carcinoma“. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry*.
- Bikov et al. 2013. „Standardised exhaled breath collection for the measurement of exhaled volatile organic compounds by proton transfer reaction mass spectrometry.“ *BMC pulmonary medicine*.
- Birken et al. 2006. „A novel visually CO2 controlled alveolar breath sampling technique.“ *Technology and health care : official journal of the European Society for Engineering and Medicine*.
- Bödeker et al. 2008. „Visualisation of MCC/IMS-data“. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry*.
- Bond, Ashley et al. 2019. „Volatile organic compounds emitted from faeces as a biomarker for colorectal cancer“. *Aliment Pharmacol Ther.* (October 2018).
- Borsdorf et al. 2011. „Recent Developments in Ion Mobility Spectrometry“. *Applied Spectroscopy Reviews*.
- Brown et al. 2009. „Propofol and in vivo oxidative stress: effects of preservative.“ *Journal of breath research*.
- Buszewski et al. 2009. „Analysis of exhaled breath from smokers, passive smokers and

non-smokers by solid-phase microextraction gas chromatography/mass spectrometry.“ *Biomedical chromatography : BMC*.

Chen et al. 2015. „Field Switching Combined with Bradbury-Nielsen Gate for Ion Mobility Spectrometry“. *Analytical Chemistry*.

Cope et al. 2000. „Increased gastrointestinal ethanol production in obese mice: implications for fatty liver disease pathogenesis.“ *Gastroenterology*.

Cope et al. 2004. „Effects of ventilation on the collection of exhaled breath in humans.“ *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*.

Cumeras et al. 2012. „Influence of operational background emissions on breath analysis using MCC/IMS devices“. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry*.

Cumeras et al. 2015. „Review on ion mobility spectrometry. Part 1: current instrumentation.“ *The Analyst*.

Das, Souvik, Saurabh Pal, und Madhuchhanda Mitra. 2016. „Significance of Exhaled Breath Test in Clinical Diagnosis: A Special Focus on the Detection of Diabetes Mellitus“. *Journal of Medical and Biological Engineering* 36(5): 605–24.

Diskin et al. 2003. „Time variation of ammonia, acetone, isoprene and ethanol in breath: a quantitative SIFT-MS study over 30 days.“ *Physiological measurement*.

Farajzadeh et al. 2002. „Analysis of n-alkanes at sub microgram per liter level after direct solid phase microextraction from aqueous samples.“ *Analytical sciences : the international journal of the Japan Society for Analytical Chemistry*.

Filipiak et al. 2012a. „Dependence of exhaled breath composition on exogenous factors, smoking habits and exposure to air pollutants“. *Journal of Breath Research*.

Filipiak et al. 2012b. „Molecular analysis of volatile metabolites released specifically by *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*.“ *BMC microbiology*.

Fuchs, P., C. Loeseken, J.K. Schubert, und W. Miekisch. 2010. „Breath gas aldehydes as biomarkers of lung cancer“. *International Journal of Cancer* 126(11): 2663–70.  
<http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext/122653294/PDFSTART%5Cnhttp://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed9&NEWS=N&AN=2010260092>.

Ganshorn. 2016. „spiro-scout.pdf“.

Gordon et al. 1985. „Volatile organic compounds in exhaled air from patients with lung cancer.“ *Clinical chemistry*.

Gorham et al. 2013. „NIH Public Access“.

Grabowska-Polanowska et al. 2013. „Detection of potential chronic kidney disease markers in breath using gas chromatography with mass-spectral detection coupled with thermal desorption method.“ *Journal of chromatography. A*.

Heptner, Andre, Tobias Reinecke, Jens Langejuergen, und Stefan Zimmermann. 2014. „A gated atmospheric pressure drift tube ion mobility spectrometer-time-of-flight mass spectrometer“. *Journal of Chromatography A* 1356: 241–48.

Hietanen et al. 1994. „Diet and oxidative stress in breast, colon and prostate cancer patients: a case-control study.“ *European journal of clinical nutrition*.

Humad et al. 1988. „Breath pentane excretion as a marker of disease activity in rheumatoid arthritis.“ *Free radical research communications*.

Hüppe, Tobias et al. 2019. „Volatile Organic Compounds in Patients With Acute Kidney Injury and Changes During Dialysis“. *Critical care medicine*.

Ionescu et al. 2011. „Detection of multiple sclerosis from exhaled breath using bilayers of polycyclic aromatic hydrocarbons and single-wall carbon nanotubes“. *ACS Chemical Neuroscience*.

Jareño-Esteban et al. 2013. „Volatile organic compounds in exhaled breath in a healthy population: effect of tobacco smoking.“ *Archivos de bronconeumología*.

Jordan et al. 1995. „Acetonitrile and benzene in the breath of smokers and non-smokers investigated by proton transfer reaction mass spectrometry (PTR-MS)“. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*.

Jünger et al. 2012. „Ion mobility spectrometry for microbial volatile organic compounds: a new identification tool for human pathogenic bacteria.“ *Applied microbiology and biotechnology*.

Kerckx et al. 2009. „Axial distribution heterogeneity of nitric oxide airway production in healthy adults.“ *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*.

King et al. 2010. „A modeling-based evaluation of isothermal rebreathing for breath gas analyses of highly soluble volatile organic compounds.“ *Journal of breath research*.

King et al. 2011. „A mathematical model for breath gas analysis of volatile organic compounds with special emphasis on acetone.“ *Journal of mathematical biology*.

King et al. 2012. „Measurement of endogenous acetone and isoprene in exhaled breath during sleep“. *Physiological Measurement*.

Kneepkens et al. 1994. „The potential of the hydrocarbon breath test as a measure of lipid peroxidation“. *Free Radical Biology and Medicine*.

Konvalina et al. 2012. „Effect of humidity on nanoparticle-based chemiresistors: A comparison between synthetic and real-world samples“. *ACS Applied Materials and Interfaces*.

Kumar et al. 2013. „Selected ion flow tube mass spectrometry analysis of exhaled breath for volatile organic compound profiling of esophago-gastric cancer“. *Analytical Chemistry*.

- Kunze et al. 2013. „Detection and validation of volatile metabolic patterns over different strains of two human pathogenic bacteria during their growth in a complex medium using multi-capillary column-ion mobility spectrometry (MCC-IMS).“ *Applied microbiology and biotechnology*.
- Li et al. 2016. „Determination of n-alkanes contamination in soil samples by micro gas chromatography functionalized by multi-walled carbon nanotubes“. *Chemosphere*.
- Ligor et al. 2008. „The analysis of healthy volunteers' exhaled breath by the use of solid-phase microextraction and GC-MS.“ *Journal of breath research*.
- Ligor et al. 2009. „Determination of volatile organic compounds in exhaled breath of patients with lung cancer using solid phase microextraction and gas chromatography mass spectrometry.“ *Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC*.
- Lindinger et al. 1997. „Endogenous production of methanol after the consumption of fruit.“ *Alcoholism, clinical and experimental research*.
- Lindinger et al. 1998a. „On-line monitoring of volatile organic compounds at pptv levels by means of proton-transfer-reaction mass spectrometry (PTR-MS) medical applications, food control and environmental research“. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*.
- Lindinger et al. 1998b. „Proton-transfer-reaction mass spectrometry (PTR-MS): on-line monitoring of volatile organic compounds at pptv levels“. *Chemical Society Reviews*.
- Maddula et al. 2009. „Detection of volatile metabolites of Escherichia coli by multi capillary column coupled ion mobility spectrometry“. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*.
- McGrath, L. T. u. a. 2000. „Breath isoprene during acute respiratory exacerbation in cystic fibrosis“. *European Respiratory Journal* 16(6): 1065–69.
- Miekisch et al. 2004. „Diagnostic potential of breath analysis--focus on volatile organic compounds.“ *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*.
- Miekisch et al. 2008. „Impact of sampling procedures on the results of breath analysis.“ *Journal of breath research*.
- Mochalski et al. 2013. „Blood and breath levels of selected volatile organic compounds in healthy volunteers.“ *The Analyst*.
- Morita et al. 1986. „Increased N-pentane excretion in humans: a consequence of pulmonary oxygen exposure.“ *Anesthesiology*.
- Multichrom Ltd. 2009. „Multichrom, LLC (Multichrom Ltd.)“. <http://mcc-chrom.com/about> (1. Januar 2016).
- Mürtz et al. 2008. „Auf Spurensuche im Atem“. *Physik Journal* 7.
- O'Hara et al. 2009. „Endogenous volatile organic compounds in breath and blood of healthy volunteers“.

- O'Neill et al. 1988. „A computerized classification technique for screening for the presence of breath biomarkers in lung cancer.“ *Clinical chemistry*.
- Perl et al. 2011. „Detection of characteristic metabolites of *Aspergillus fumigatus* and *Candida* species using ion mobility spectrometry - metabolic profiling by volatile organic compounds“. *Mycoses*.
- Phillips. 1992. „Detection of carbon disulfide in breath and air: a possible new risk factor for coronary artery disease.“ *International archives of occupational and environmental health*.
- Phillips et al. 1993. „Increased pentane and carbon disulfide in the breath of patients with schizophrenia.“ *Journal of clinical pathology* 46.
- Phillips et al. 1999. „Variation in volatile organic compounds in the breath of normal humans“. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 729.
- Phillips et al. 2004. „Increased breath biomarkers of oxidative stress in diabetes mellitus“. *Clinica Chimica Acta* 344.
- Phillips et al. 2010. „Breath biomarkers of active pulmonary tuberculosis“. *Tuberculosis* 90.
- Phillips et al. 2012. „Machine learning methods on exhaled volatile organic compounds for distinguishing COPD patients from healthy controls“. *Journal of Breath Research*.
- Rabis et al. 2011. „Detection of infectious agents in the airways by ion mobility spectrometry of exhaled breath“. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry*.
- Reuben et al. 2004. „Heliox for asthma in the emergency department: a review of the literature.“ *Emergency medicine journal : EMJ*.
- Rieder et al. 2001. „Analysis of volatile organic compounds: possible applications in metabolic disorders and cancer screening.“ *Wiener klinische Wochenschrift*.
- Risby. 2006. „Current Status of Clinical Breath Analysis“. In *Laser Applilcations to Chemical, Security and Environmental Analysis*,.
- Rissoli et al. 2016. „Effects of glyphosate and the glyphosate based herbicides Roundup Original® and Roundup Transorb® on respiratory morphophysiology of bullfrog tadpoles“. *Chemosphere*. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653516305690>.
- Roehl. 1991. „Environmental and Process Applications for Ion Mobility Spectrometry“. *Applied Spectroscopy Reviews* 26.
- Ruzsanyi et al. 2003. „Detection of the mold markers using ion mobility spectrometry“. *Int. J. Ion Mobility Spectrom.*
- Ruzsanyi et al. 2005. „Detection of human metabolites using multi-capillary columns coupled to ion mobility spectrometers“. *Journal of Chromatography A*.

- Schmidt et al. 2004. „Microfabricated differential mobility spectrometry with pyrolysis gas chromatography for chemical characterization of bacteria“. *Analytical Chemistry*.
- Schmidt et al. 2007. SpringerVerlag Berlin Heidelberg *Physiologie des Menschen*.
- Scholpp, Joachim, Jochen K. Schubert, Wolfram Miekisch, und Klaus Geiger. 2002. „Breath markers and soluble lipid peroxidation markers in critically III patients“. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 40(6): 587–94.
- Schubert et al. 2001. „CO<sub>2</sub>-controlled sampling of alveolar gas in mechanically ventilated patients“. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*.
- Schubert et al. 2005. „Impact of inspired substance concentrations on the results of breath analysis in mechanically ventilated patients.“ *Biomarkers : biochemical indicators of exposure, response, and susceptibility to chemicals*.
- Schulz et al. 2007. „Bacterial volatiles: the smell of small organisms.“ *Natural product reports*.
- Silbersack et al. 2006. „An acetoin-regulated expression system of *Bacillus subtilis*“. *Applied Microbiology and Biotechnology*.
- Simenhoff et al. 1977. „Biochemical profile or uremic breath.“ *The New England journal of medicine*.
- Smith et al. 1999. „Trace gases in breath of healthy volunteers when fasting and after a protein-calorie meal: a preliminary study.“ *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*.
- Smith et al. 2010. „Isoprene levels in the exhaled breath of 200 healthy pupils within the age range 7-18 years studied using SIFT-MS.“ *Journal of breath research*.
- Spanel et al. 2007. „The concentration distributions of some metabolites in the exhaled breath of young adults.“ *Journal of breath research* 1.
- Stach et al. 2002. „Ion Mobility Spectrometry - Basic Elements and Applications“. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry*.
- Stoll et al. 1967. „[Research on the aromas. On the aroma of coffee. I].“ *Helvetica chimica acta*.
- Tisch et al. 2012. „Detection of Alzheimer’s and Parkinson’s disease from exhaled breath using nanomaterial-based sensors“. *Nanomedicine*.
- Turner et al. 2006. „A longitudinal study of methanol in the exhaled breath of 30 healthy volunteers using selected ion flow tube mass spectrometry, SIFT-MS.“ *Physiological measurement*.
- Vautz et al. 2004. „Determination of terpenes in humid ambient air using ultraviolet ion mobility spectrometry“. *Analytica Chimica Acta*.

Vautz et al. 2006. „Ion mobility spectrometry for food quality and safety.“ *Food additives and contaminants*.

Vautz et al. 2008. „Exemplar application of multi-capillary column ion mobility spectrometry for biological and medical purpose“. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry*.

Vautz et al. 2009. „Breath analysis-performance and potential of ion mobility spectrometry.“ *Journal of breath research*.

Vautz et al. 2010. „Analyses of mouse breath with ion mobility spectrometry: a feasibility study.“ *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*.

Wallace et al. 1996. „Breath measurements as volatile organic compound biomarkers.“ *Environmental health perspectives*.

Weitz et al. 1991. „High breath pentane concentrations during acute myocardial infarction“. *Lancet*.

Westhoff et al. 2007. *Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society* *Ion mobility spectrometry in the diagnosis of sarcoidosis: results of a feasibility study/*

Westhoff, Michael u. a. 2010. „Differentiation of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) including lung cancer from healthy control group by breath analysis using ion mobility spectrometry“. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry* 13(3): 131–39.

Whitaker, D. K. 2011. „Time for capnography - Everywhere“. *Anaesthesia* 66(7): 544–49.

Xiao et al. 2014. „Strategies for enhancing fermentative production of acetoin: A review“. *Biotechnology Advances*.

Zanjani et al. 2006. „Analysis of n-alkanes in water samples by means of headspace solvent microextraction and gas chromatography“. *Journal of Hazardous Materials*. „GESTIS-Stoffdatenbank des Instituts für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (IFA)“ <<https://www.dguv.de/ifa/gestis/gestis-biostoffdatenbank/index.jsp>> [zugegriffen 15 Dezember 2018]

„Lumitos“ <[www.chemie.de](http://www.chemie.de)> [zugegriffen 13 Dezember 2018]

„The Metabolomics Innovation Centre“ <<https://www.metabolomicscentre.ca/>> [zugegriffen 15 Dezember 2018]

„Umweltbundesamt in Dessau“ <<https://www.umweltbundesamt.de/publikationen/umweltbundesamt-in-dessau>> [zugegriffen 15 Dezember 2018]

## 7. Publikationsverzeichnis

1. Wash-out of ambient air contaminations for breath measurements.

Maurer F, Wolf A, Fink T, Rittershofer B, Heim N, Volk T, Baumbach JI, Kreuer S  
J Breath Res. 2014 Jun;8(2):027107. doi: 10.1088/1752-7155/8/2/027107. Epub 2014  
May 19.



## **8. Danksagung**

Mein Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. med. Sascha Kreuer, Leiter des Center of Breath Research und der experimentellen Anästhesiologie des Universitätsklinikums des Saarlandes, für die Möglichkeit einer Dissertation unter seiner Leitung, sowie für die mannigfache Unterstützung sei es inhaltlich, organisatorisch oder persönlich.

Dem Direktor der Klinik für Anästhesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie am Universitätsklinikum des Saarlandes, Prof. Dr. med. Thomas Volk möchte ich außerdem danken.

Meinem Betreuer Herrn Dr. rer. nat. Felix Maurer danke ich besonders herzlich für die unentwegte Unterstützung, die hervorragende Anleitung und die konstruktive Zusammenarbeit, die wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Danke Felix, auch für die kritische Durchsicht meines Textes.

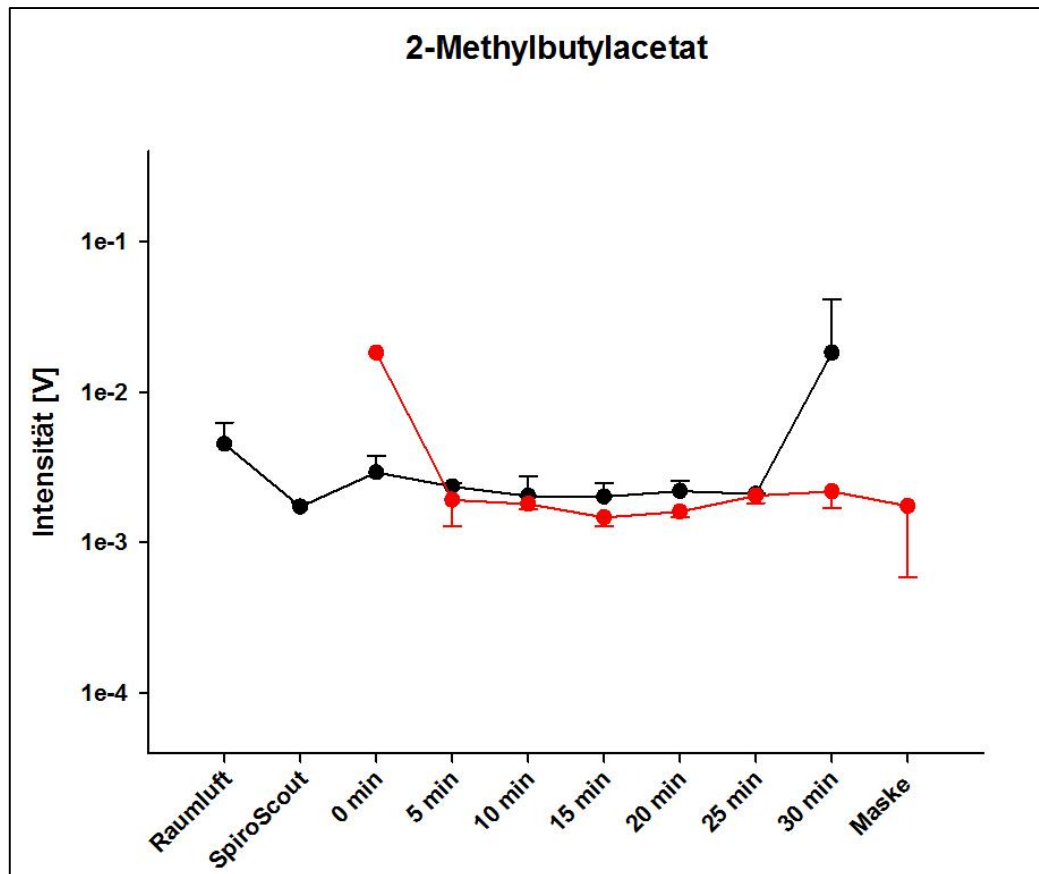
Des Weiteren möchte ich mich bei allen Mitarbeitern und Doktoranden des Center of Breath Research bedanken für die freundschaftliche Arbeitsatmosphäre, die vielen wertvollen Anregungen und die stete Hilfsbereitschaft.

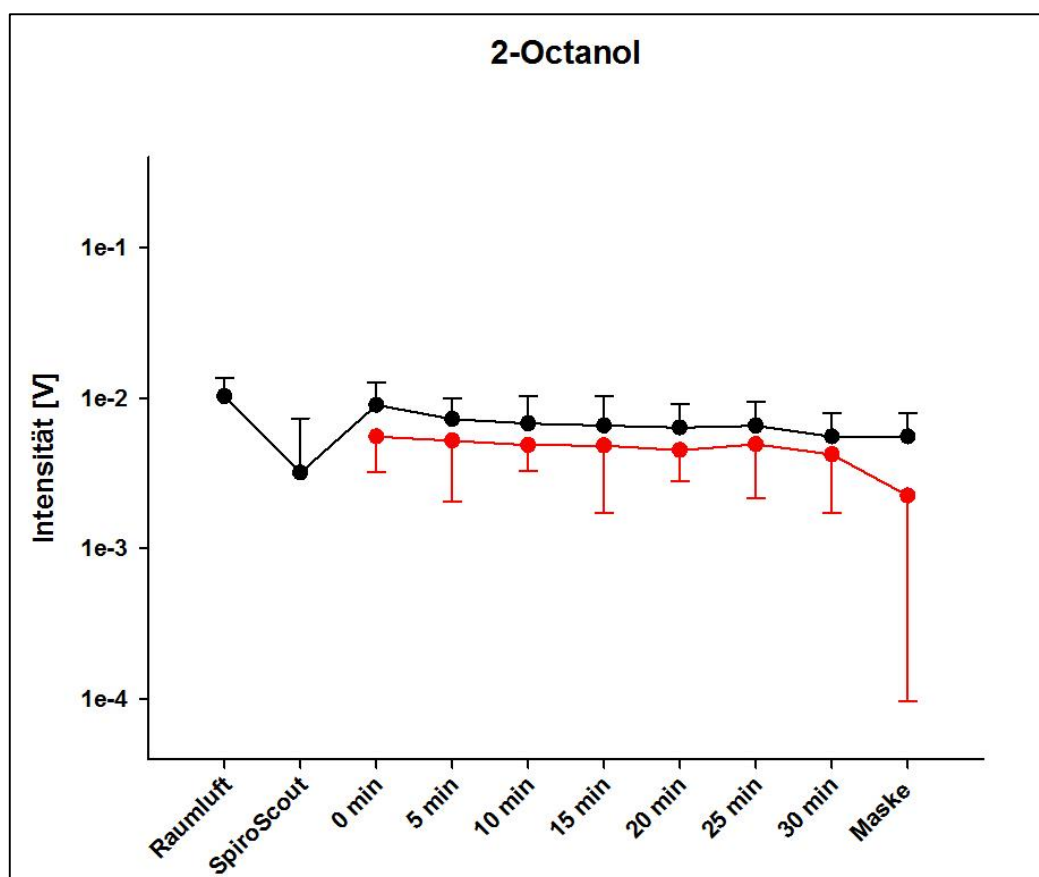
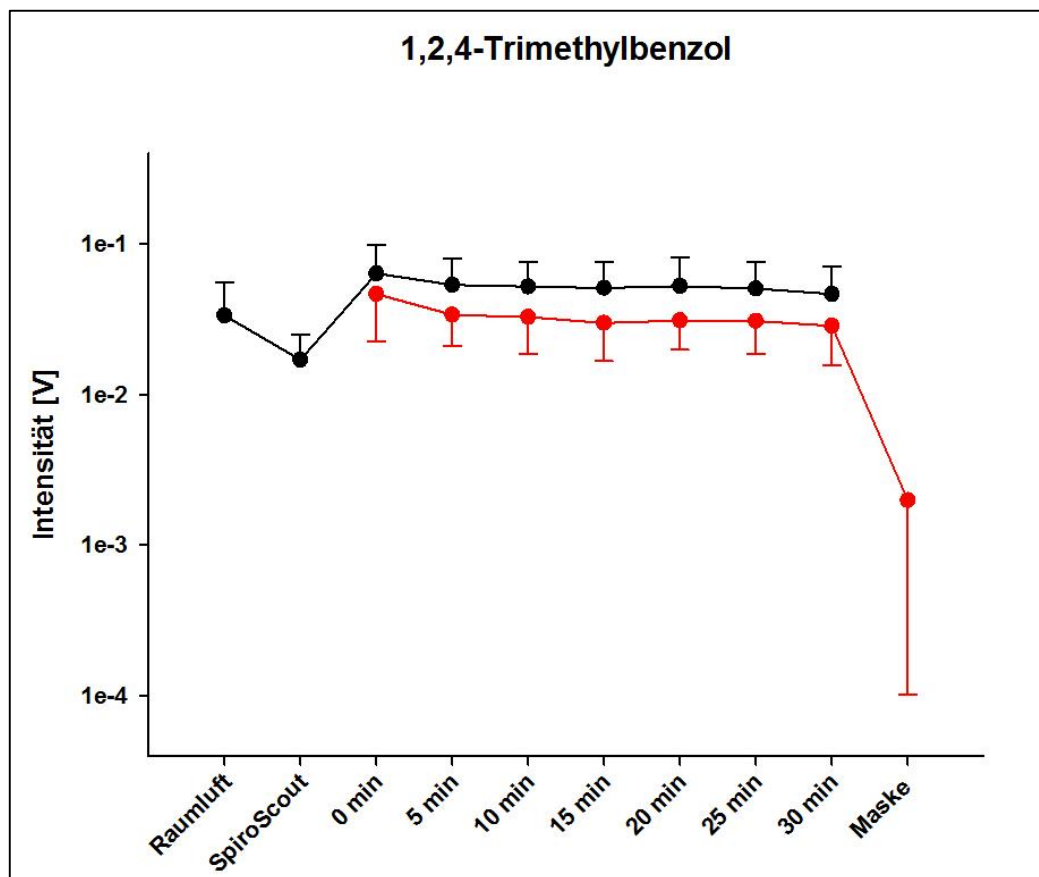
Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Professor Dr. rer. nat. habil. Jörg Ingo Baumbach für seine konstruktiven Beiträge zu dieser Arbeit.

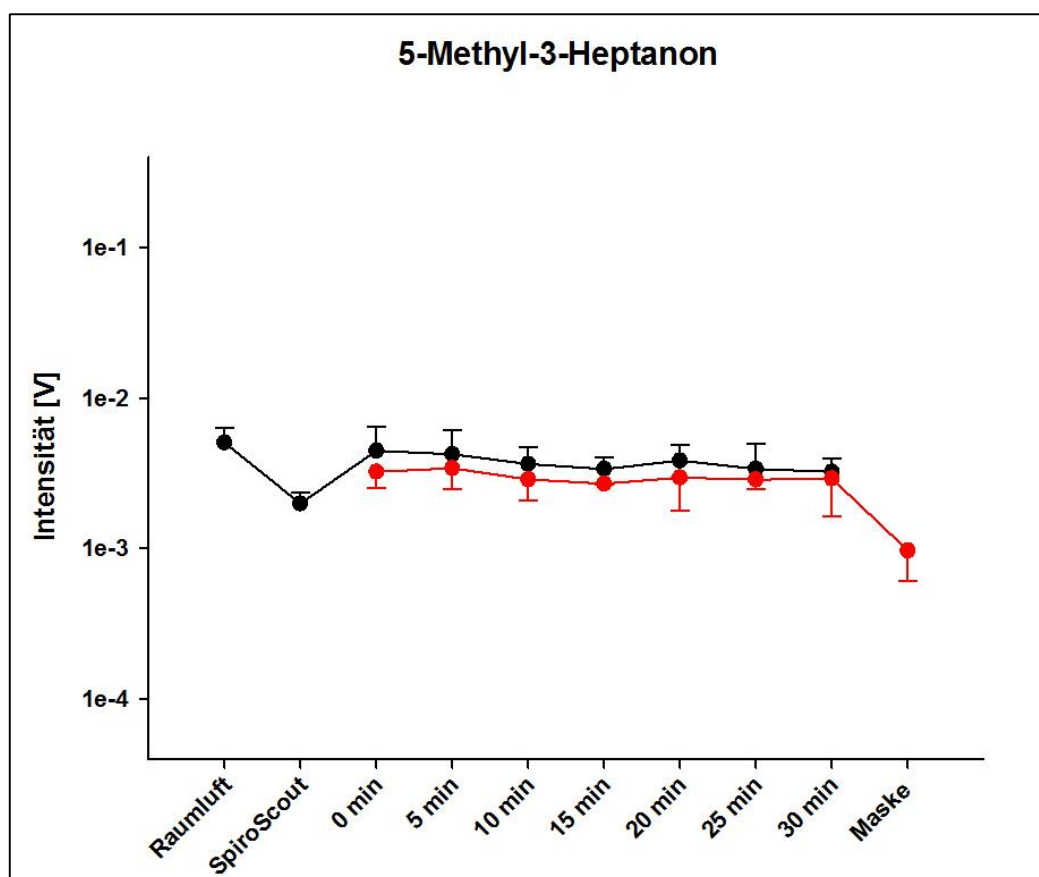
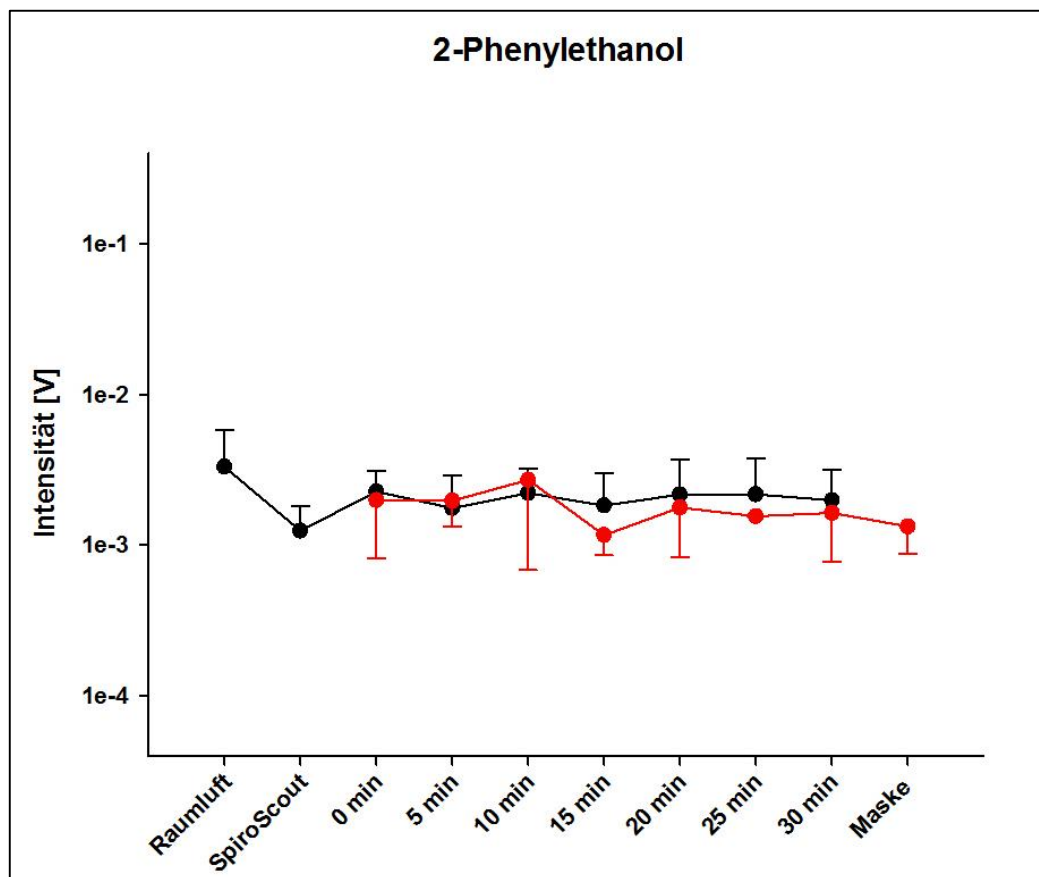
Bei meiner Familie möchte ich mich ganz besonders herzlich bedanken für die uneingeschränkte, liebevolle und vielseitige Unterstützung, die mir meinen bisherigen Lebensweg ermöglicht hat.

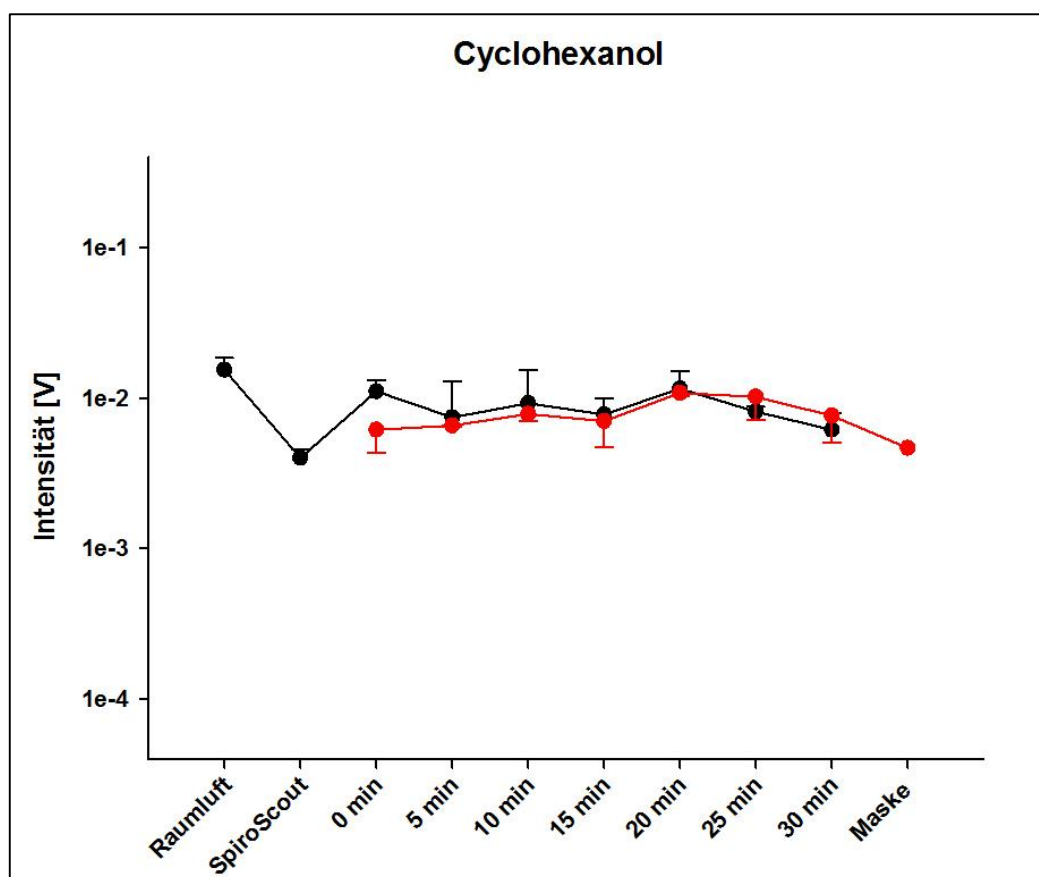
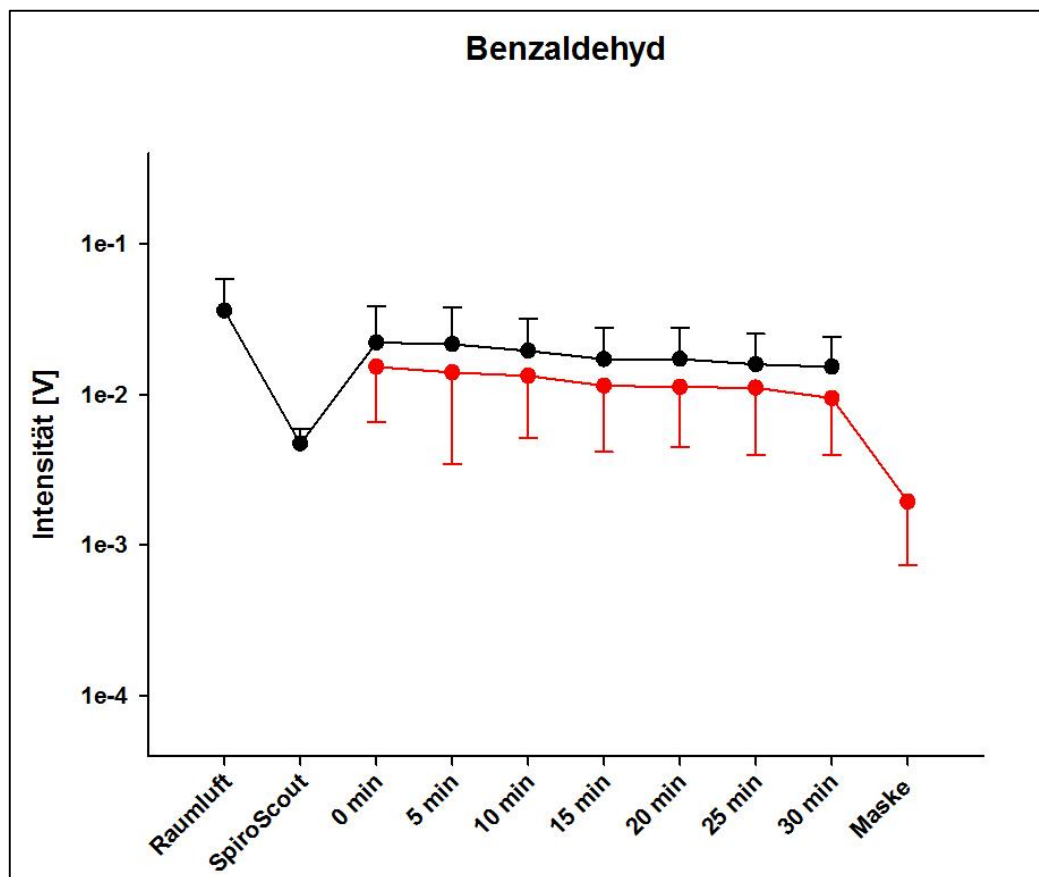
## 9. Anhang

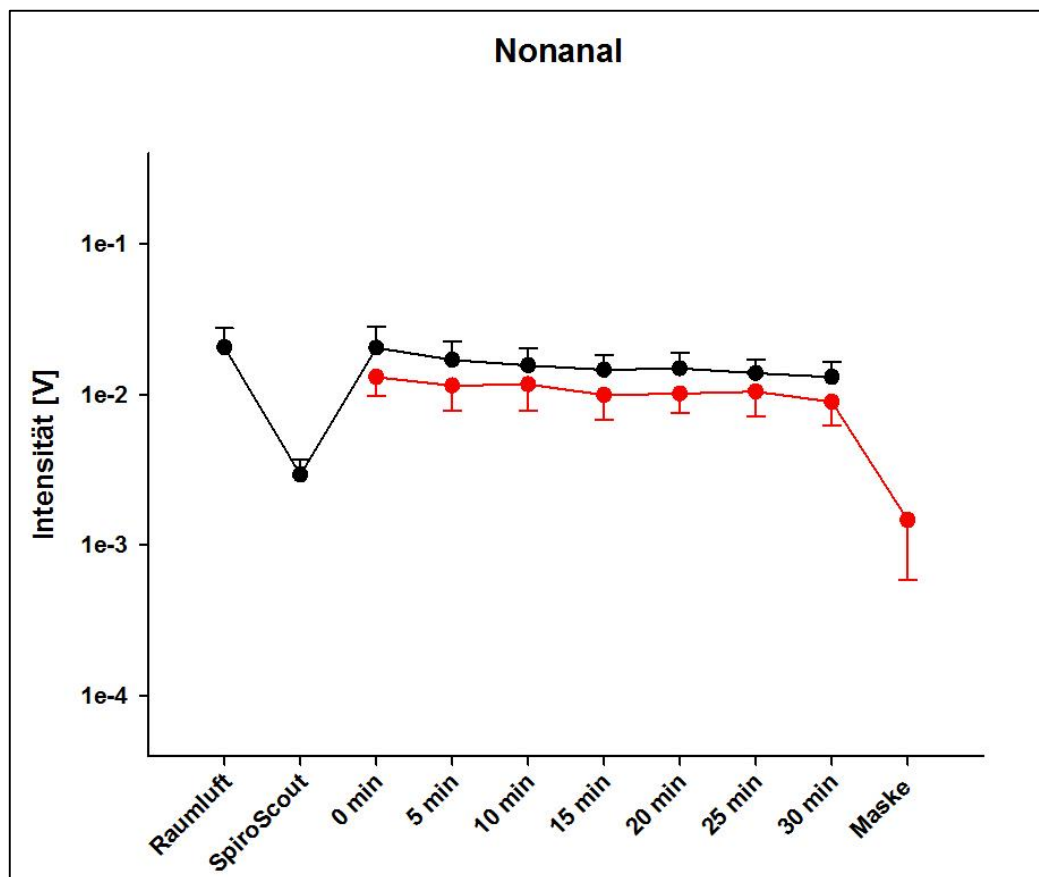
### 9.1. Gruppe1



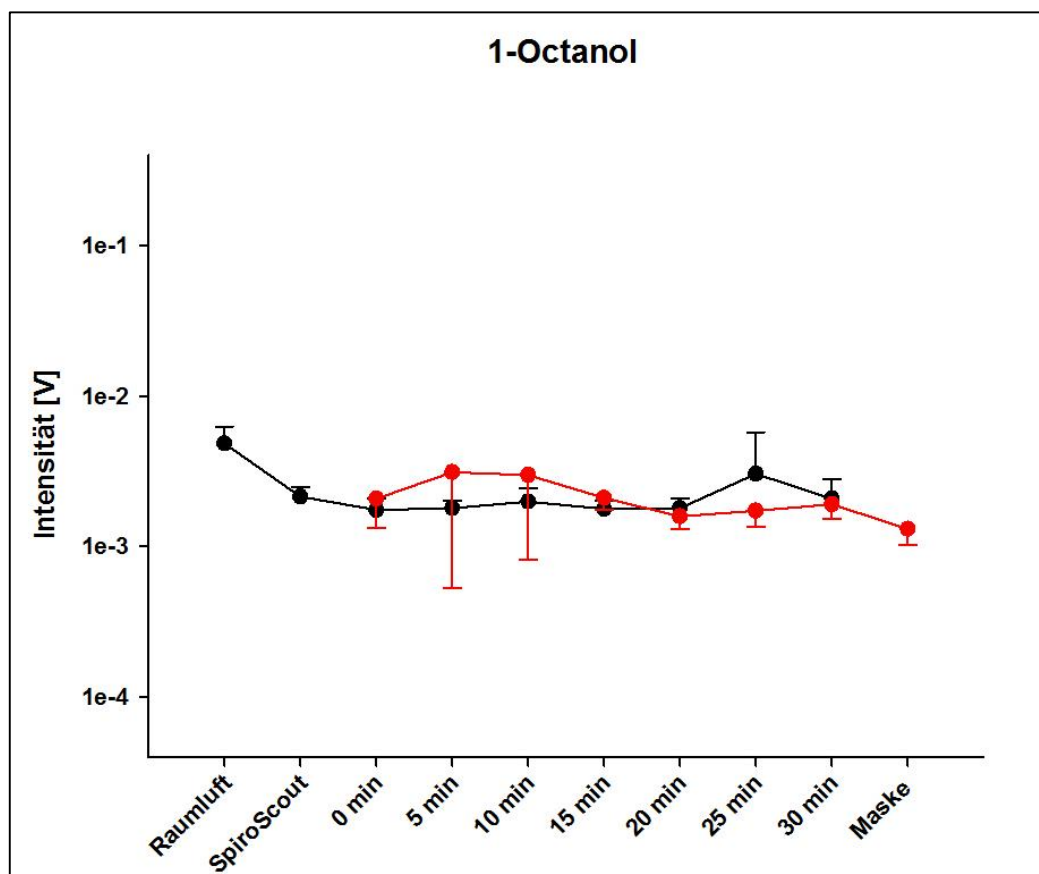
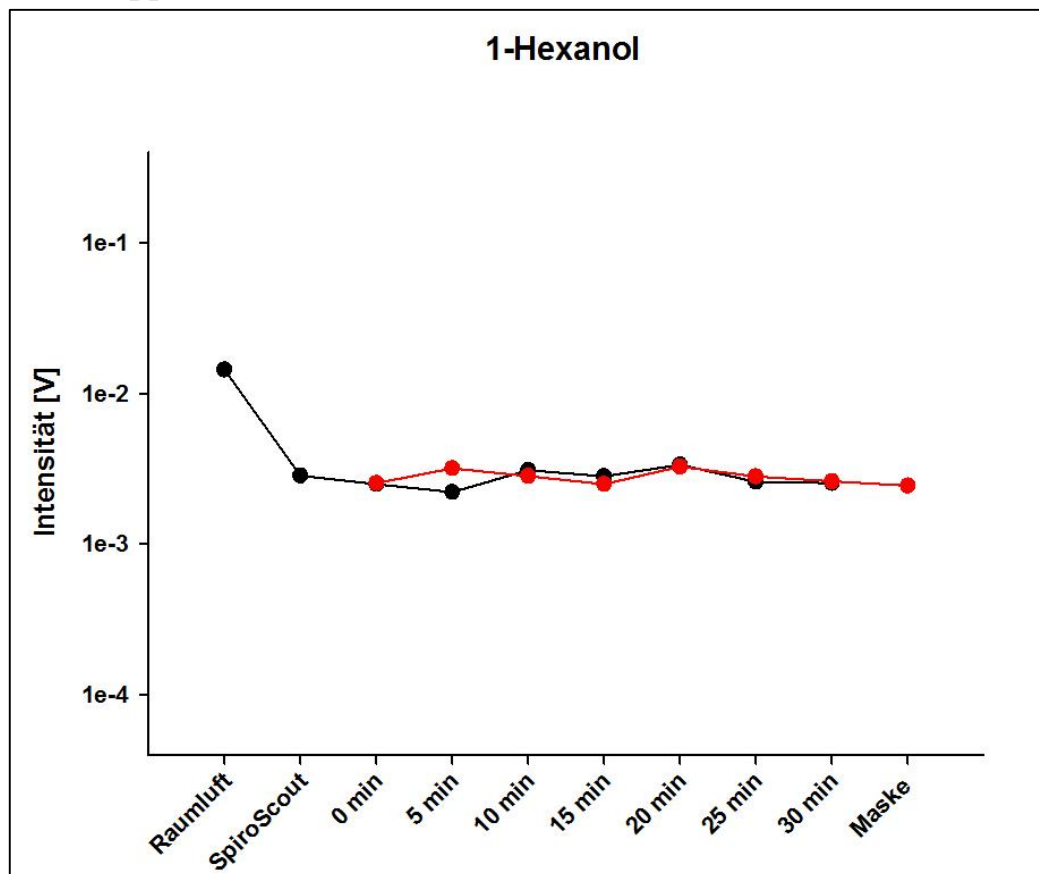


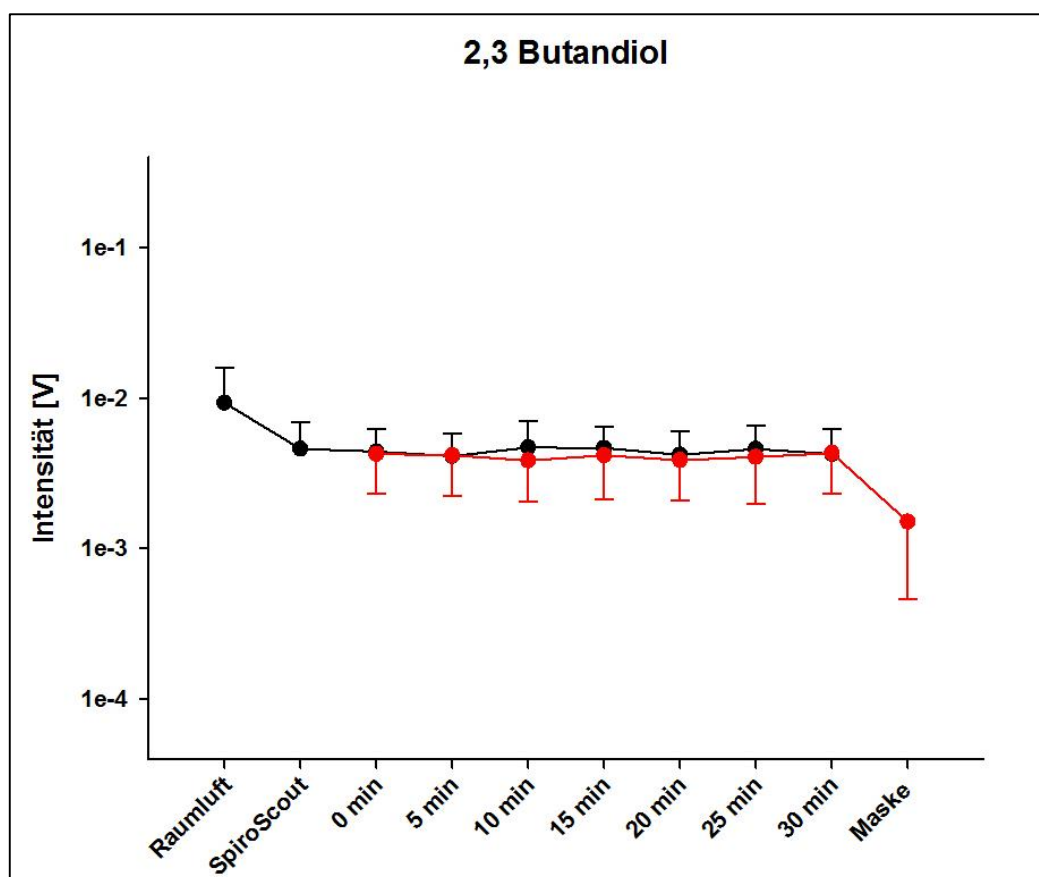
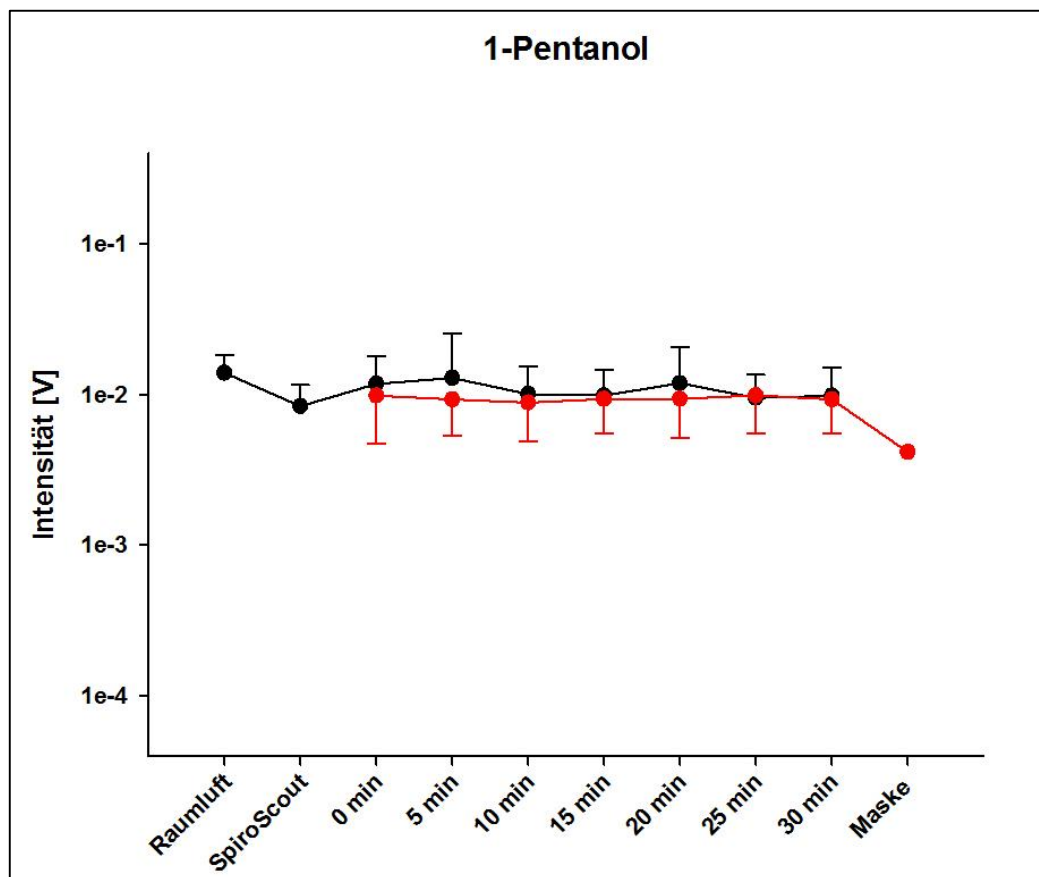




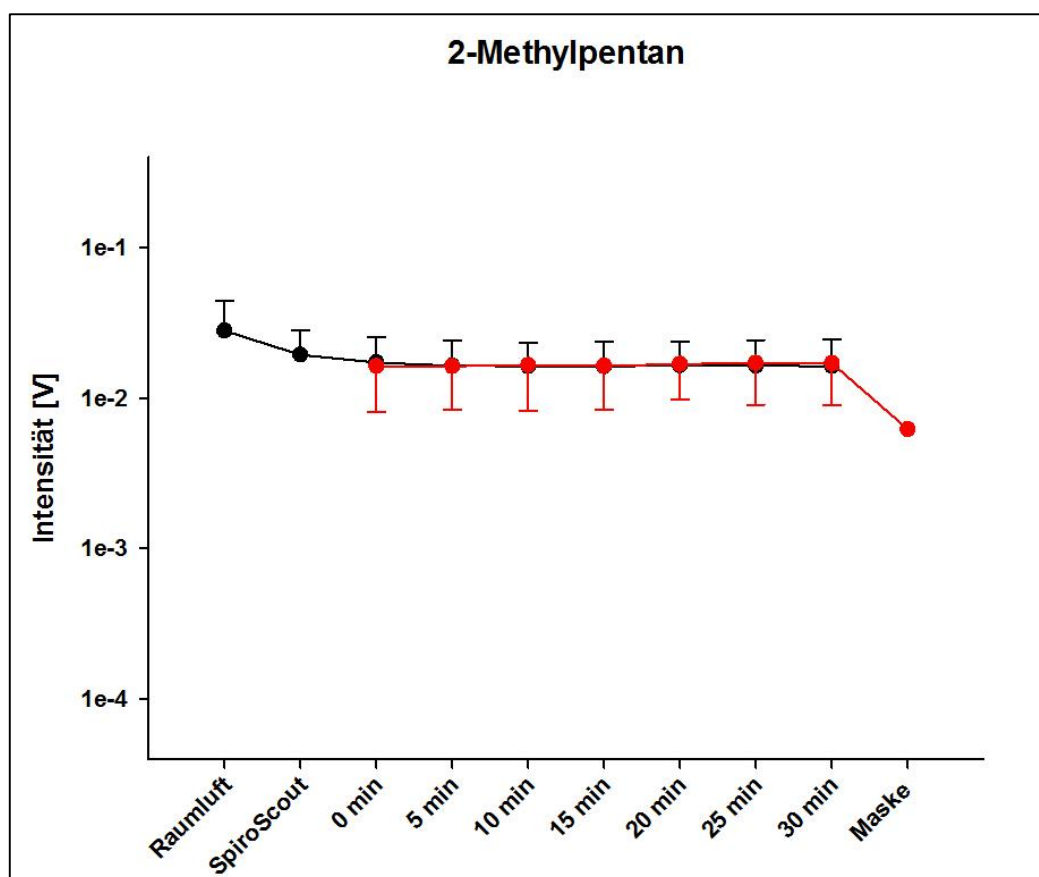
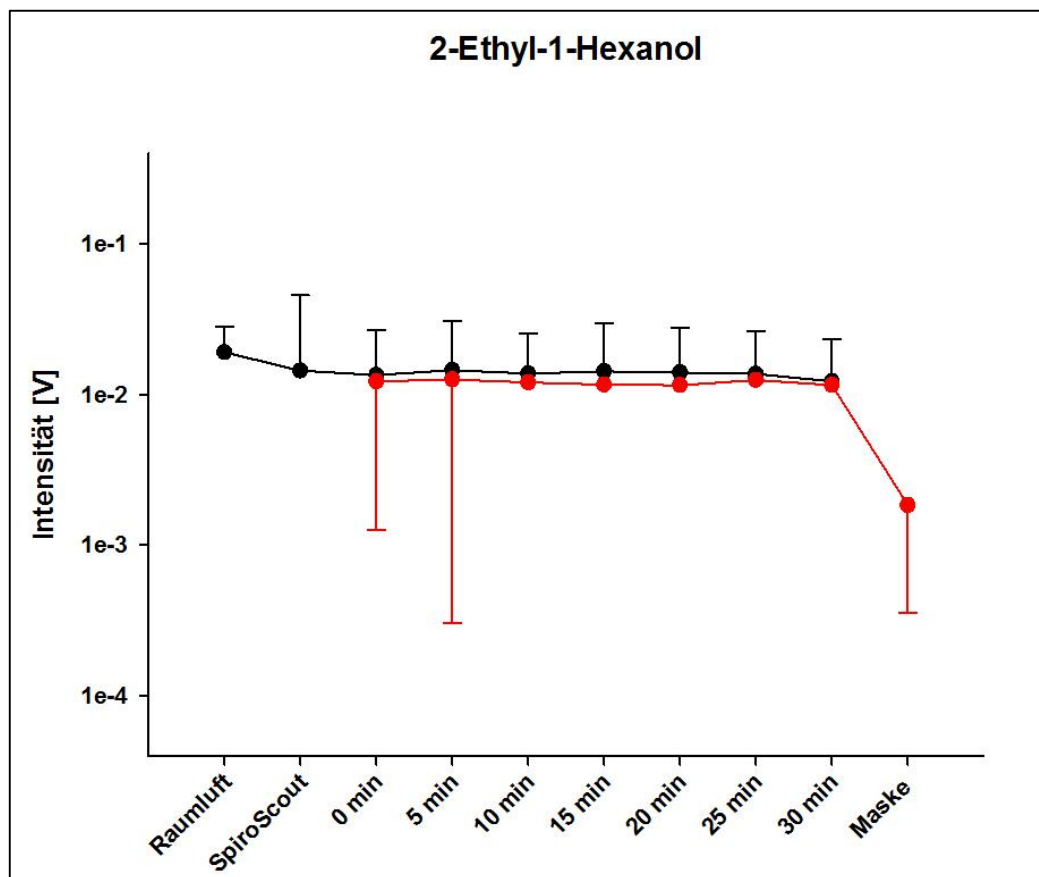


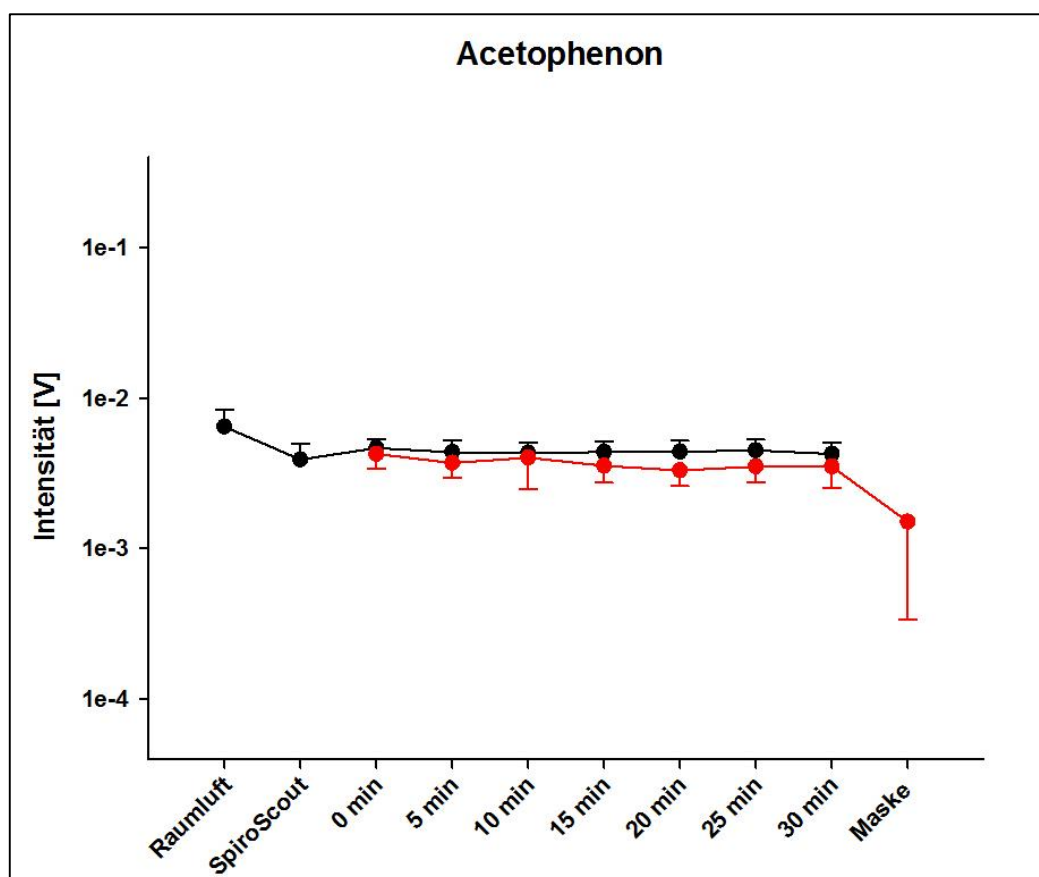
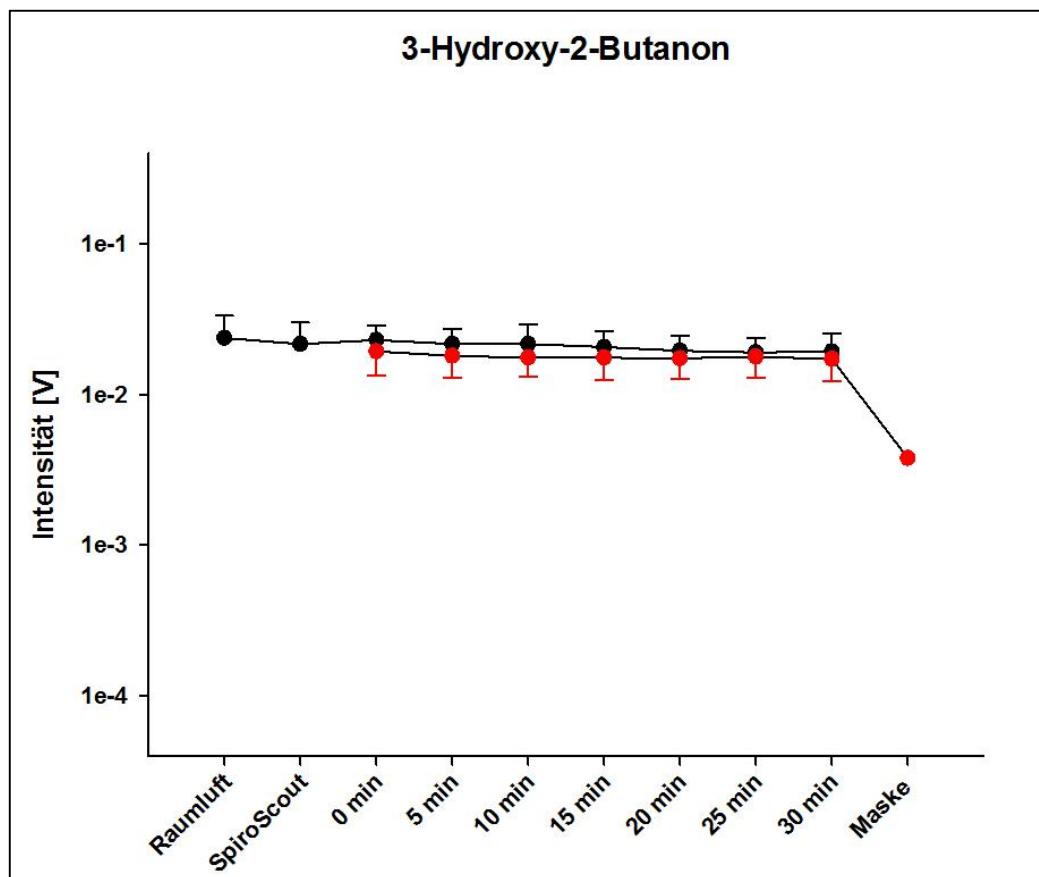
## 9.2. Gruppe 2

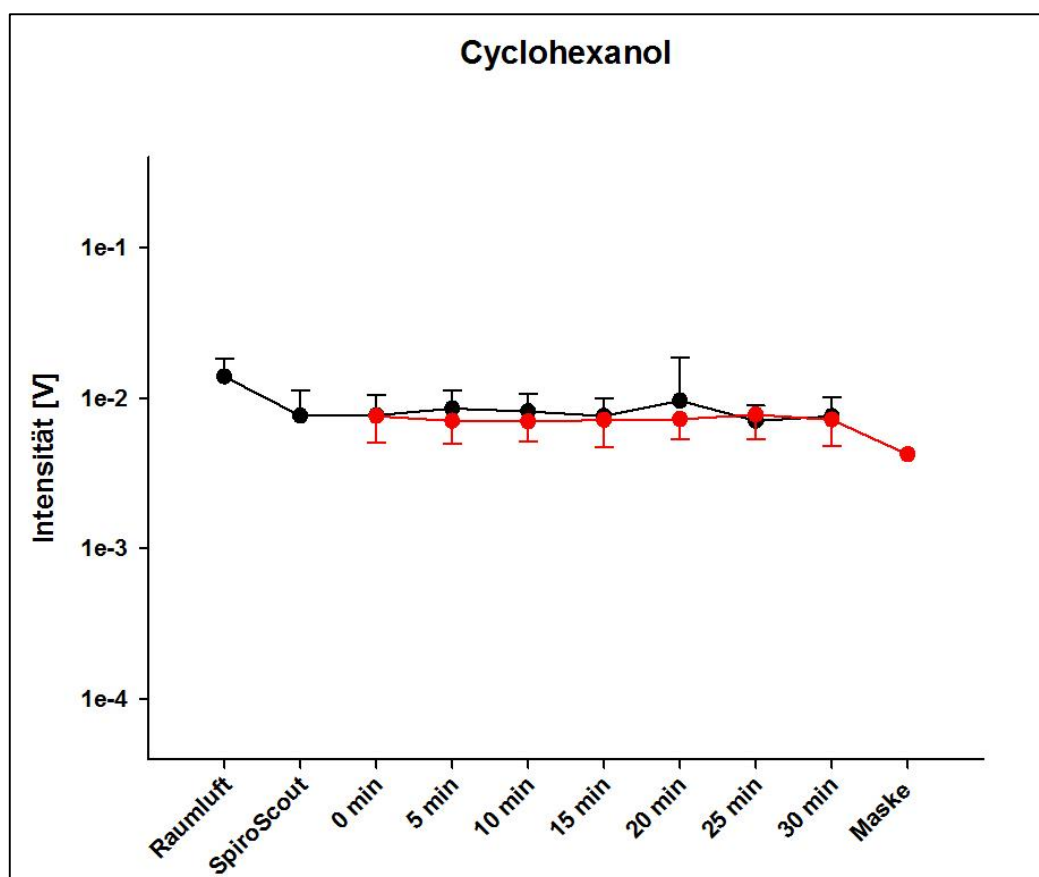
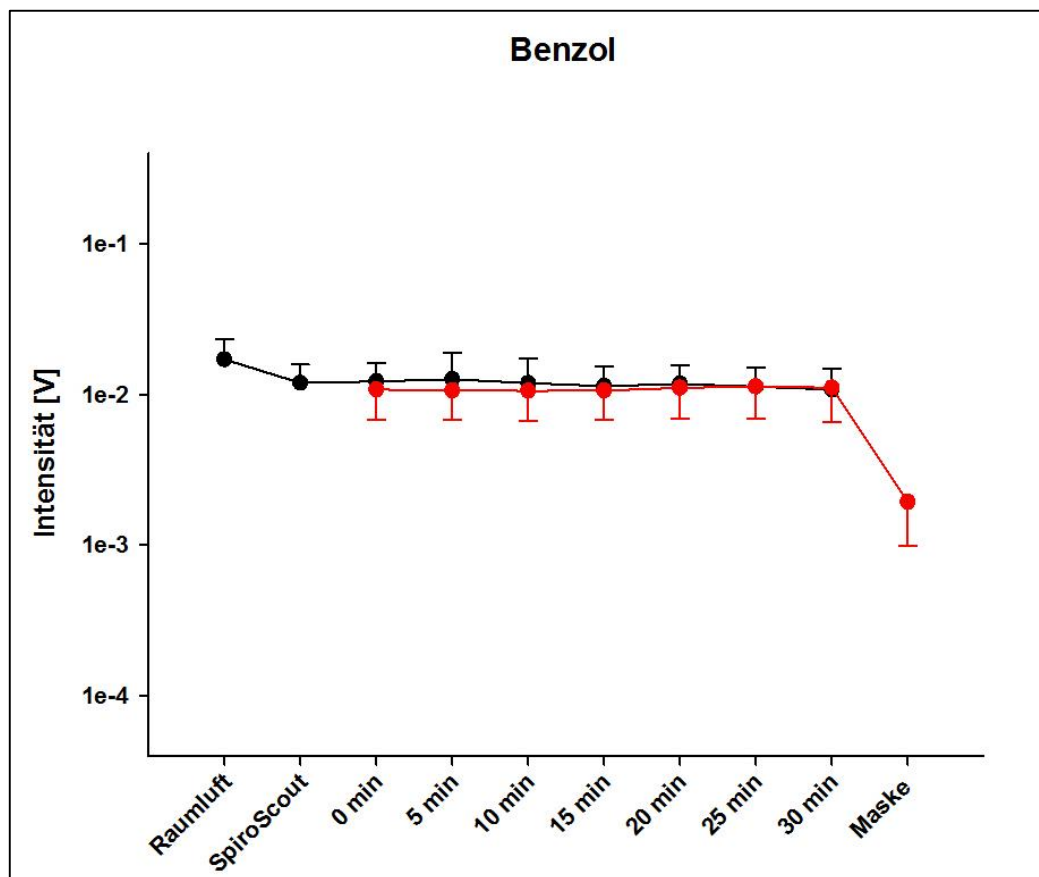


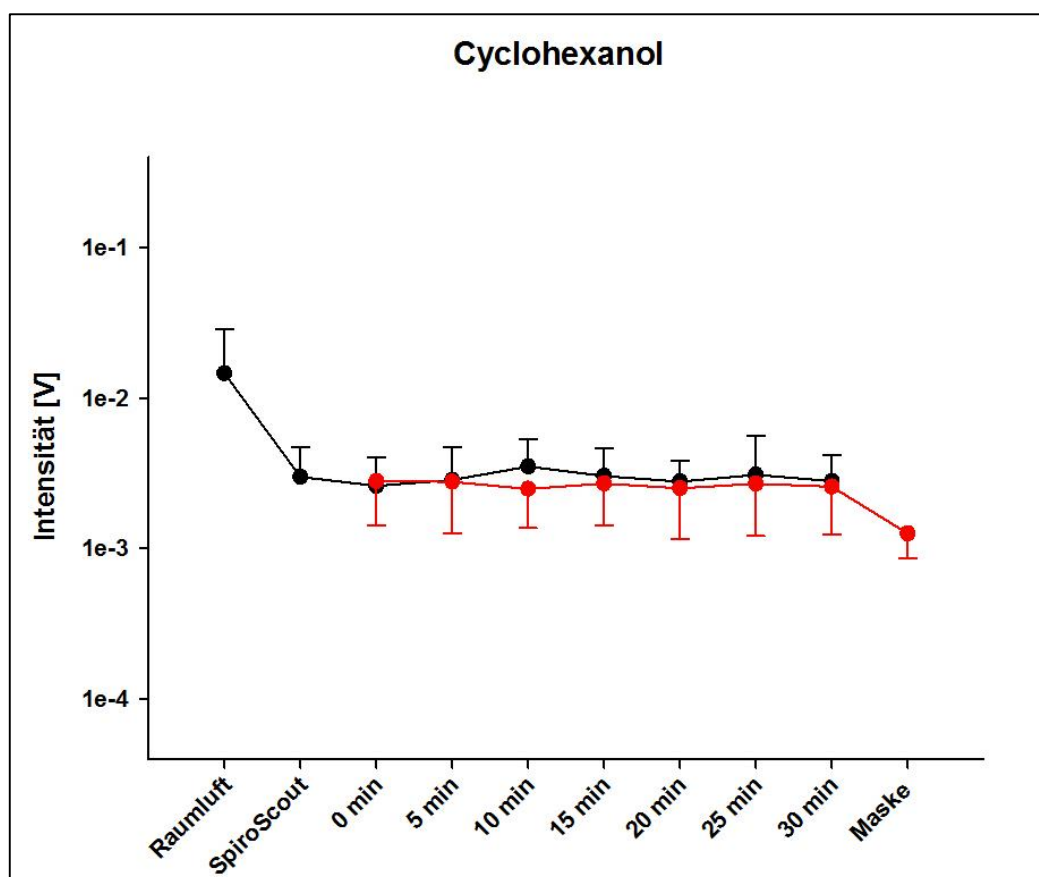
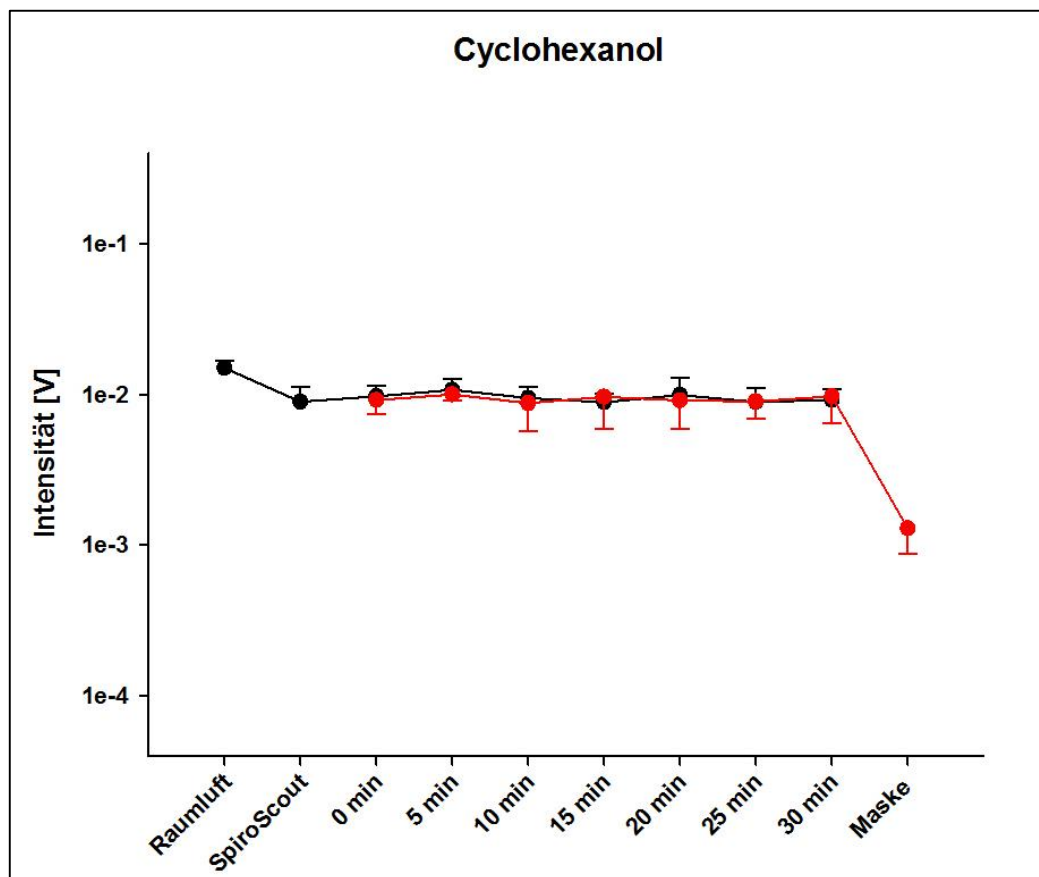


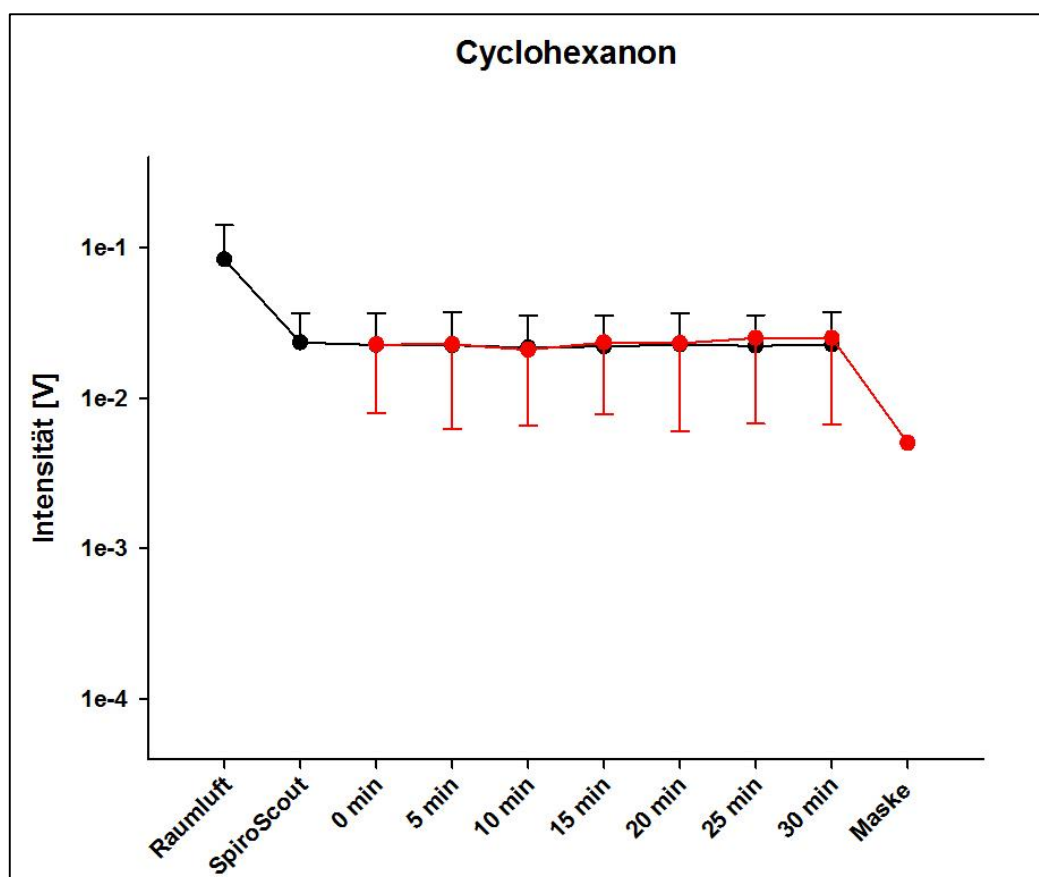
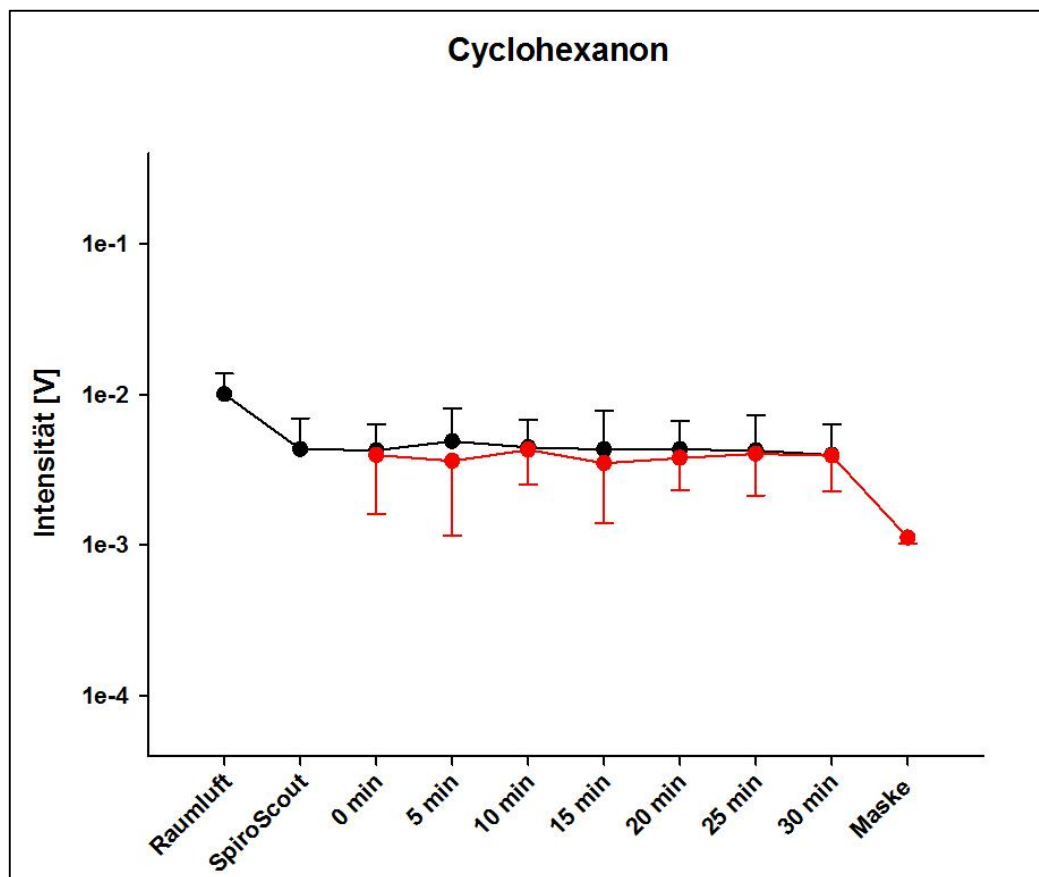


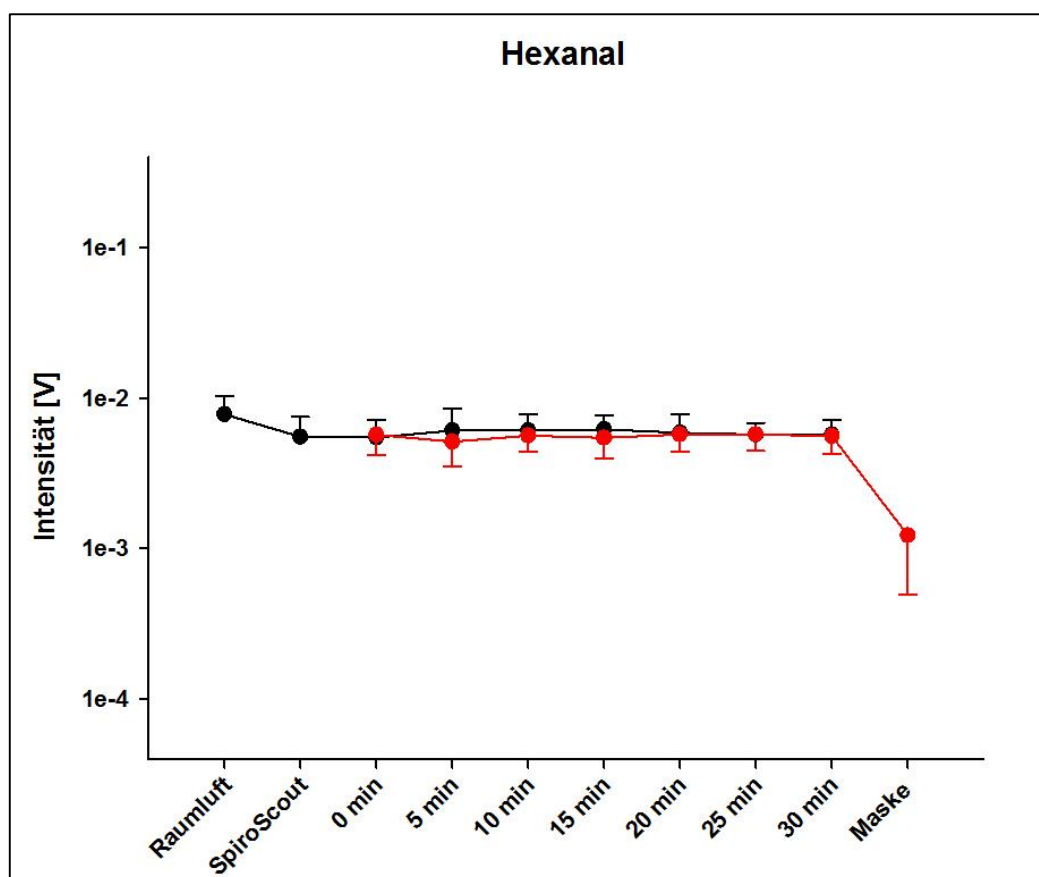
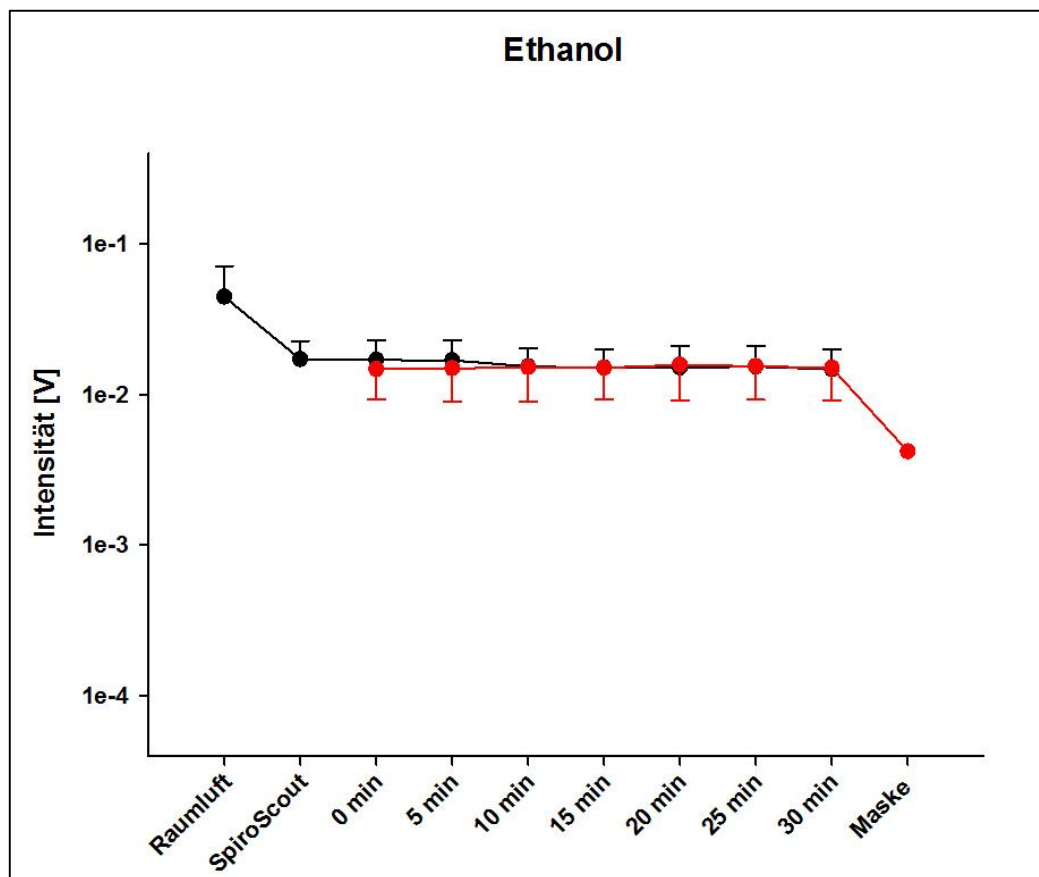


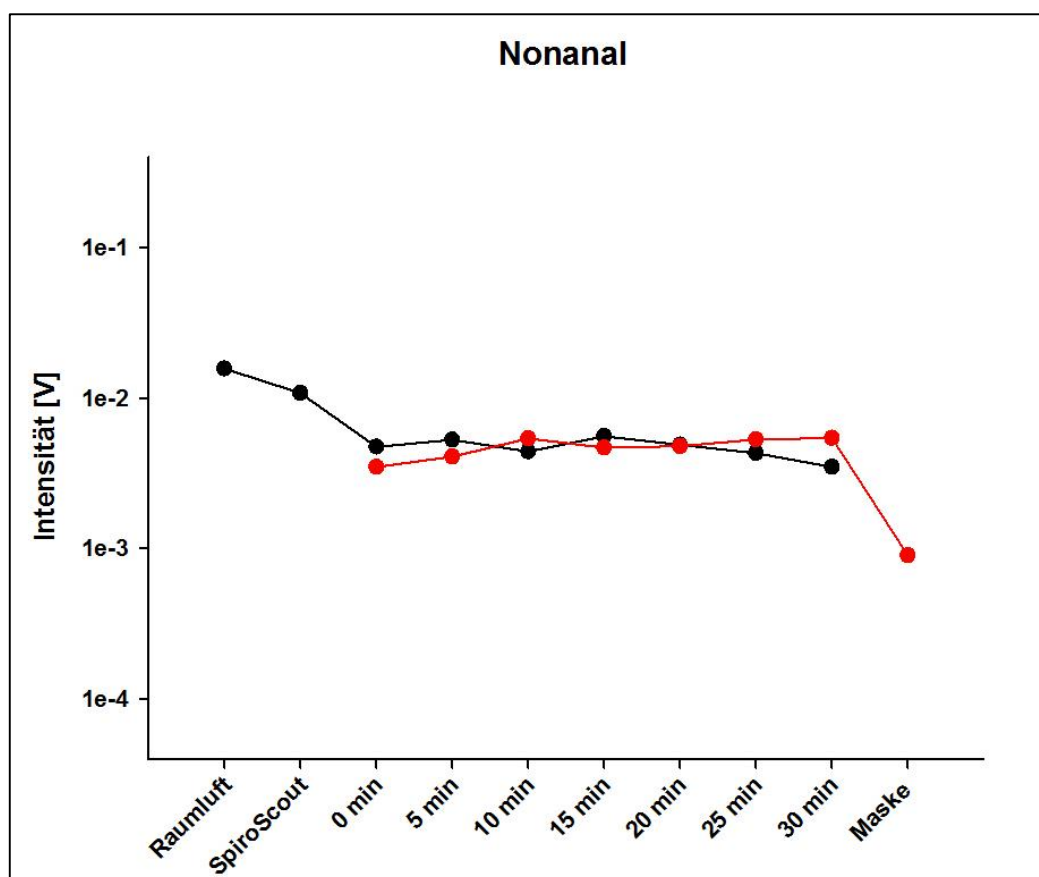
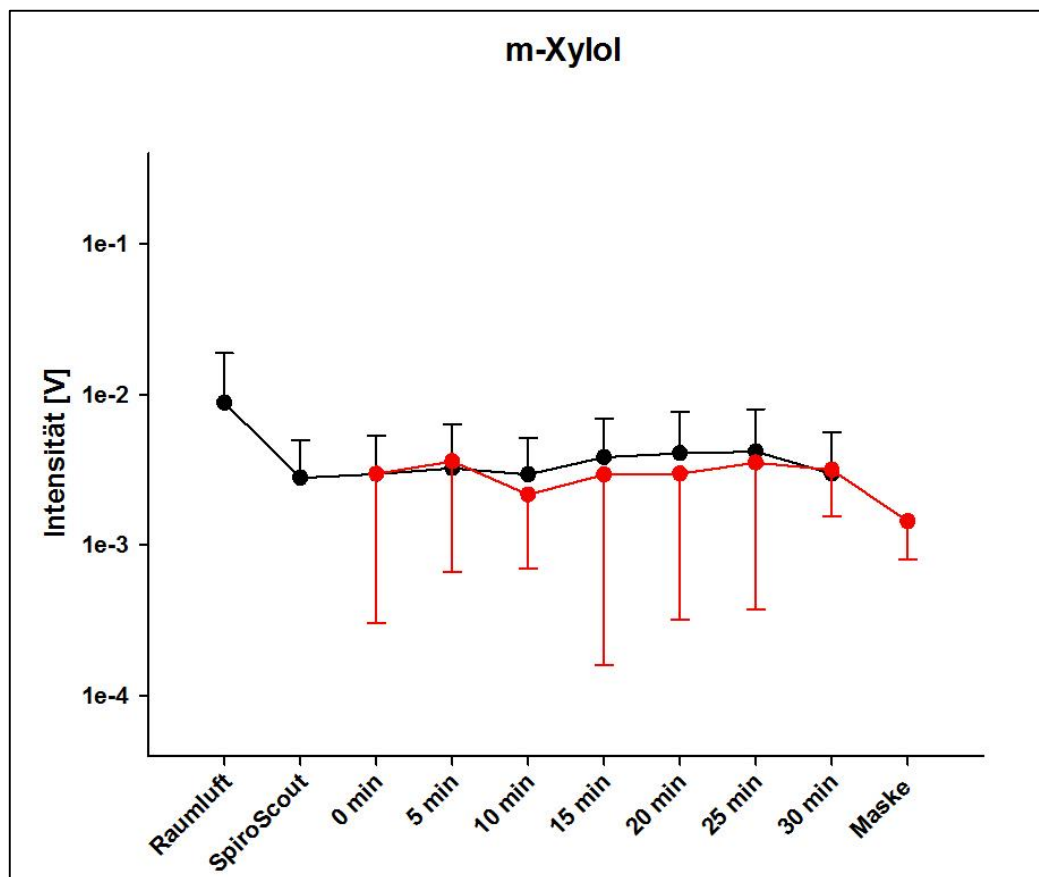




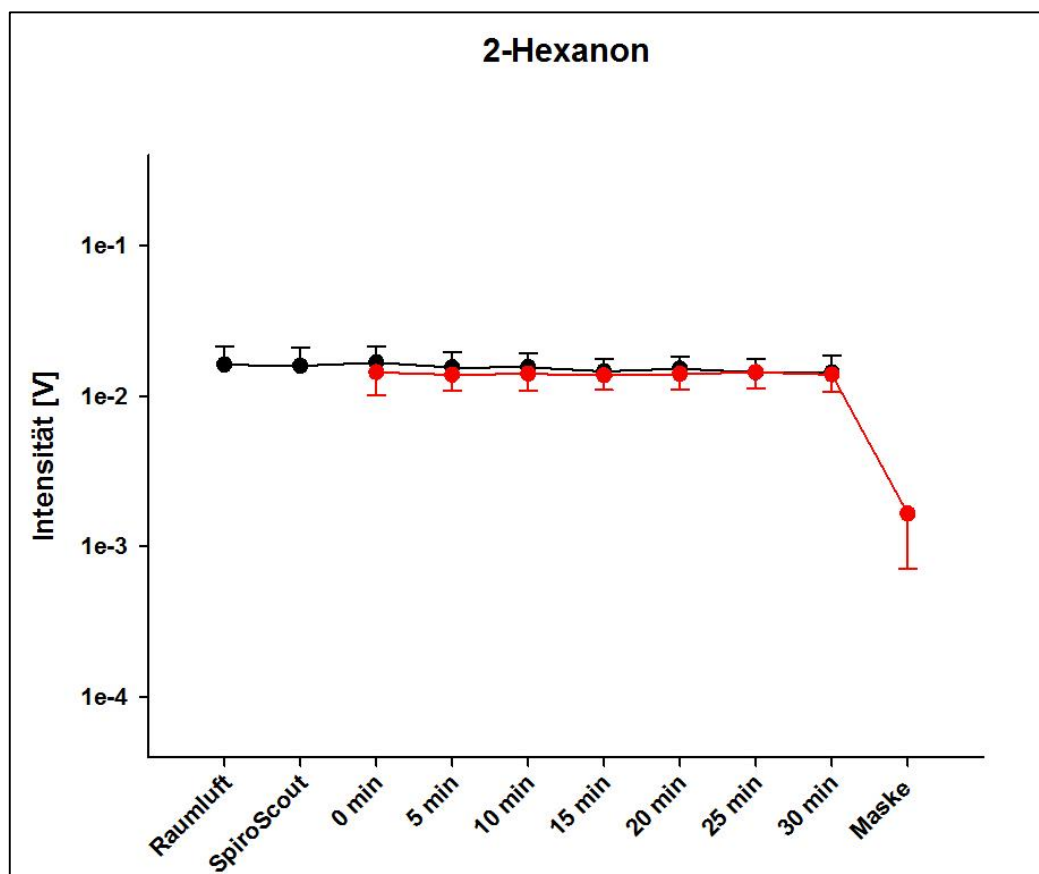
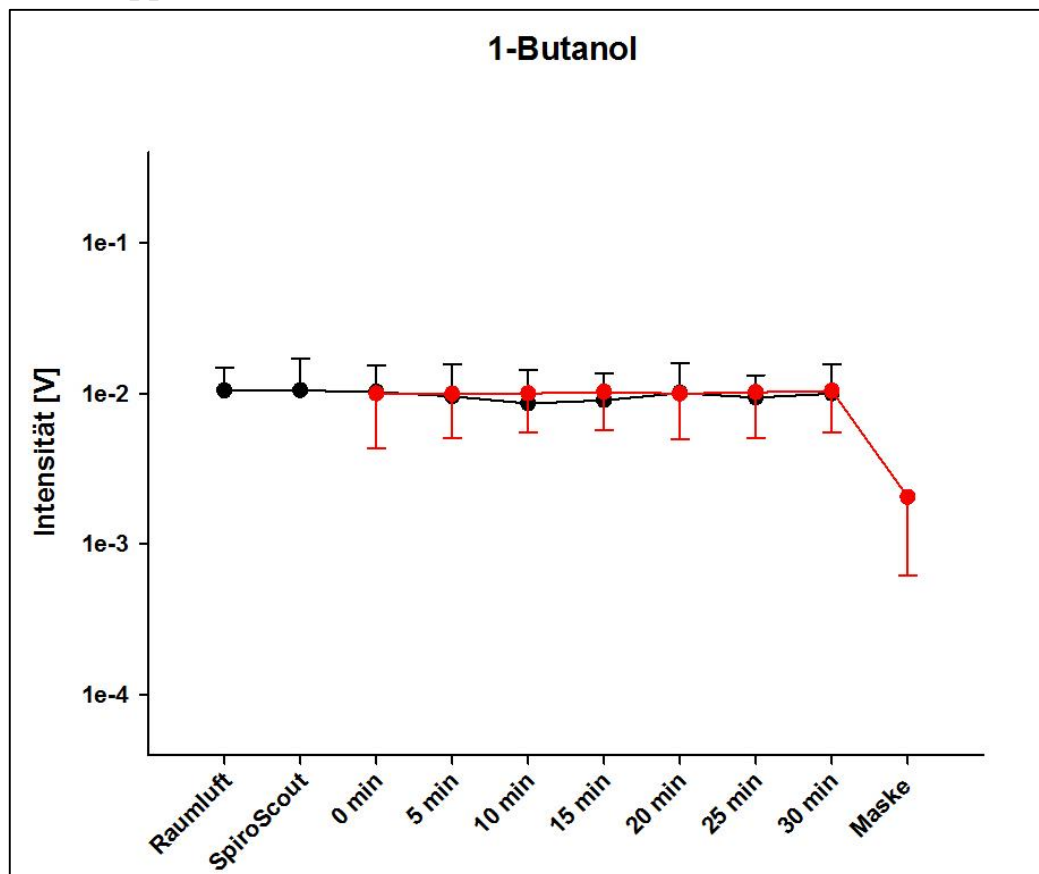




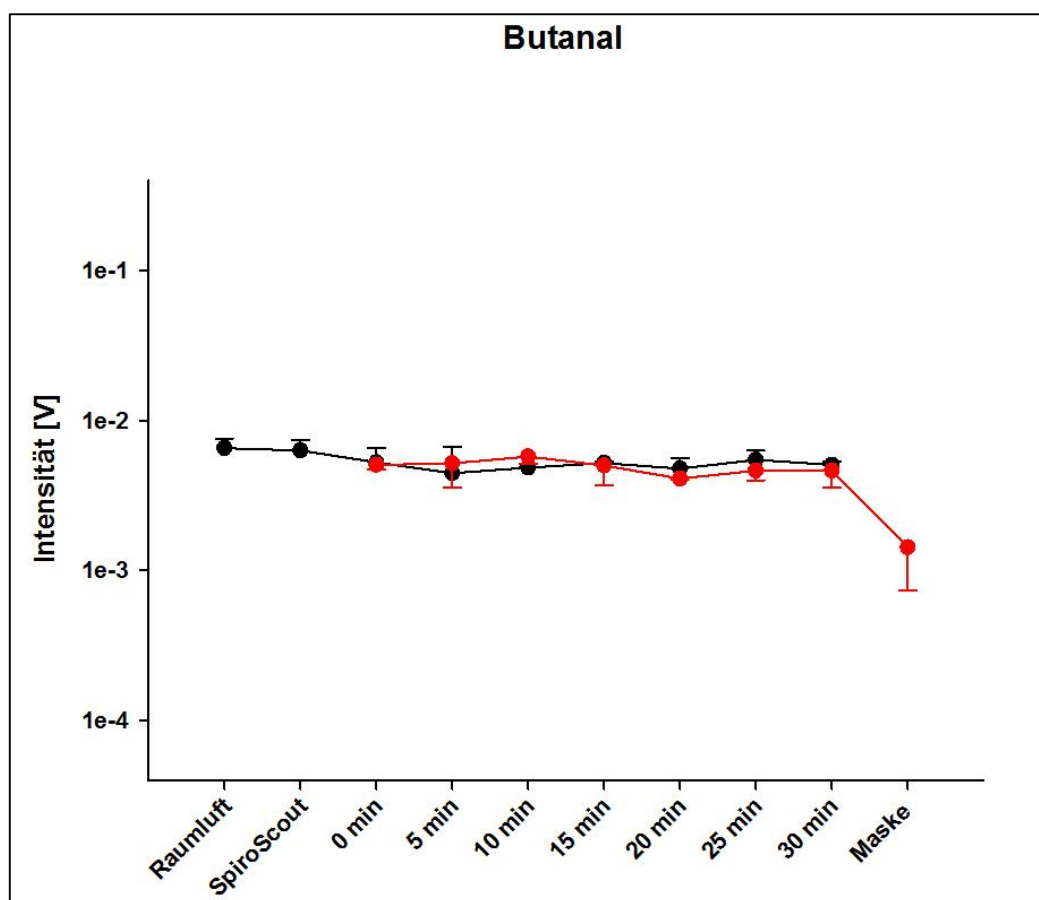
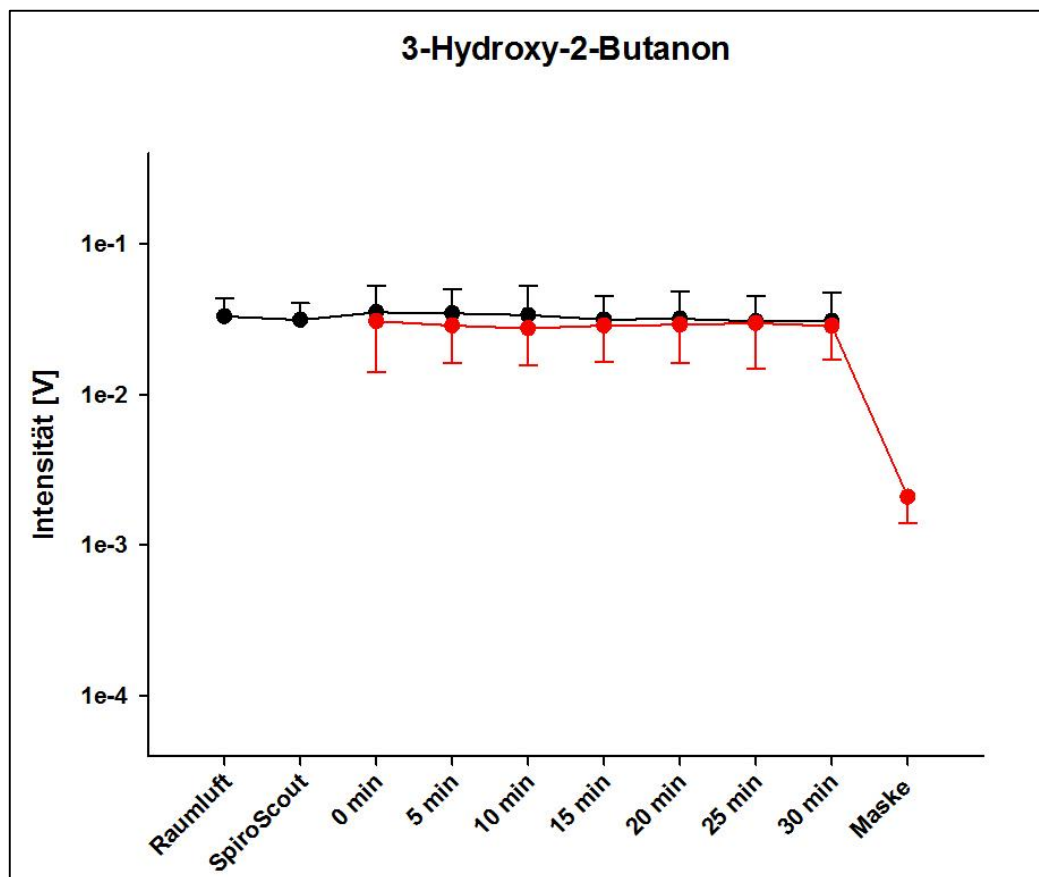


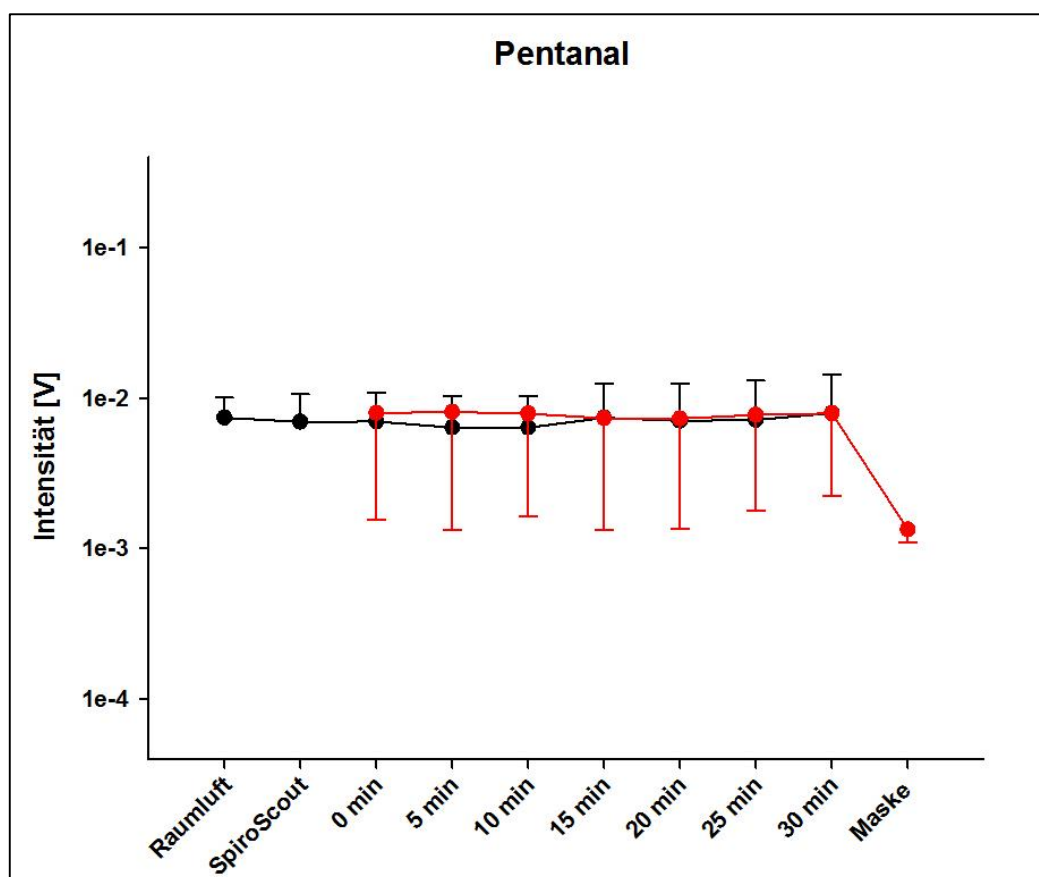
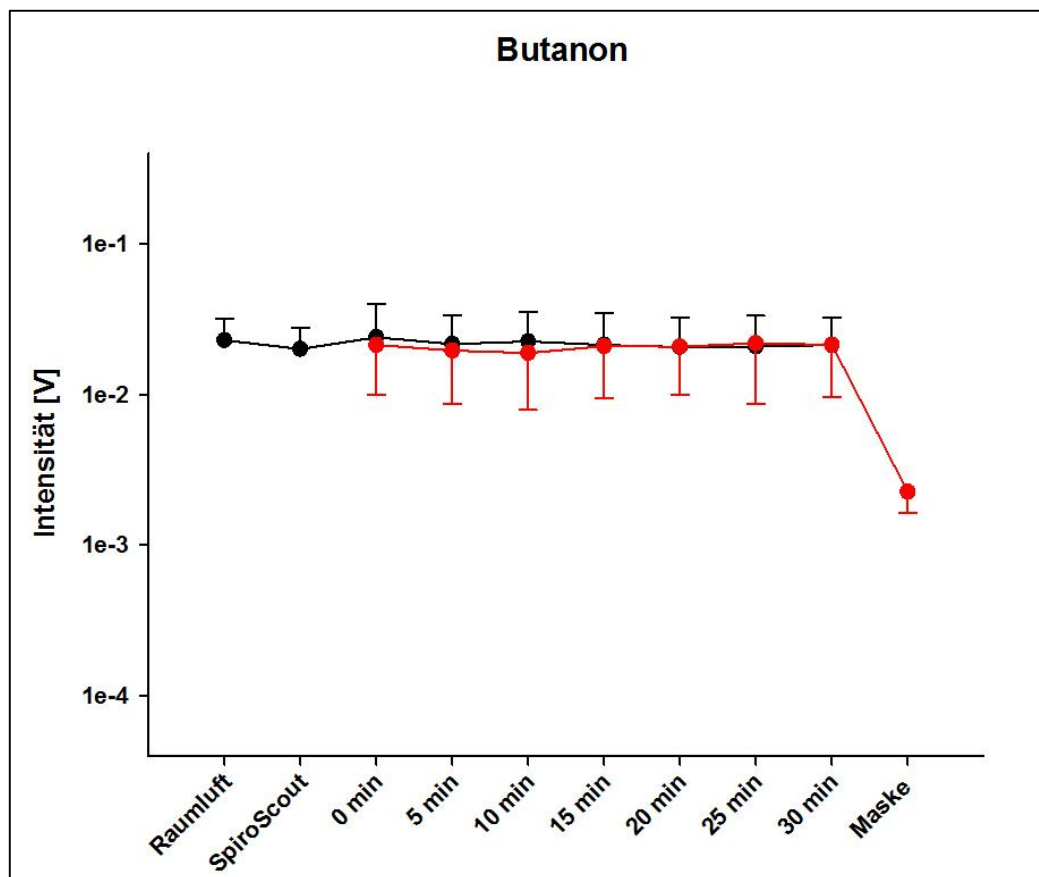


### 9.3. Gruppe 3

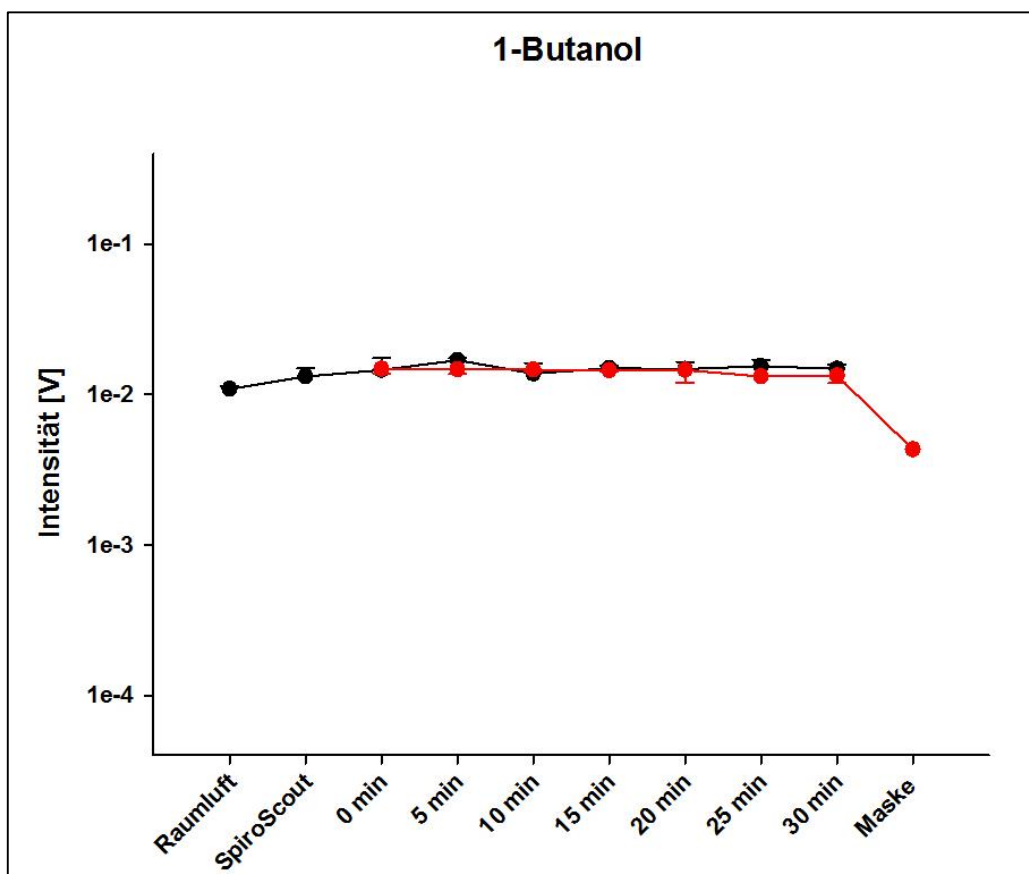
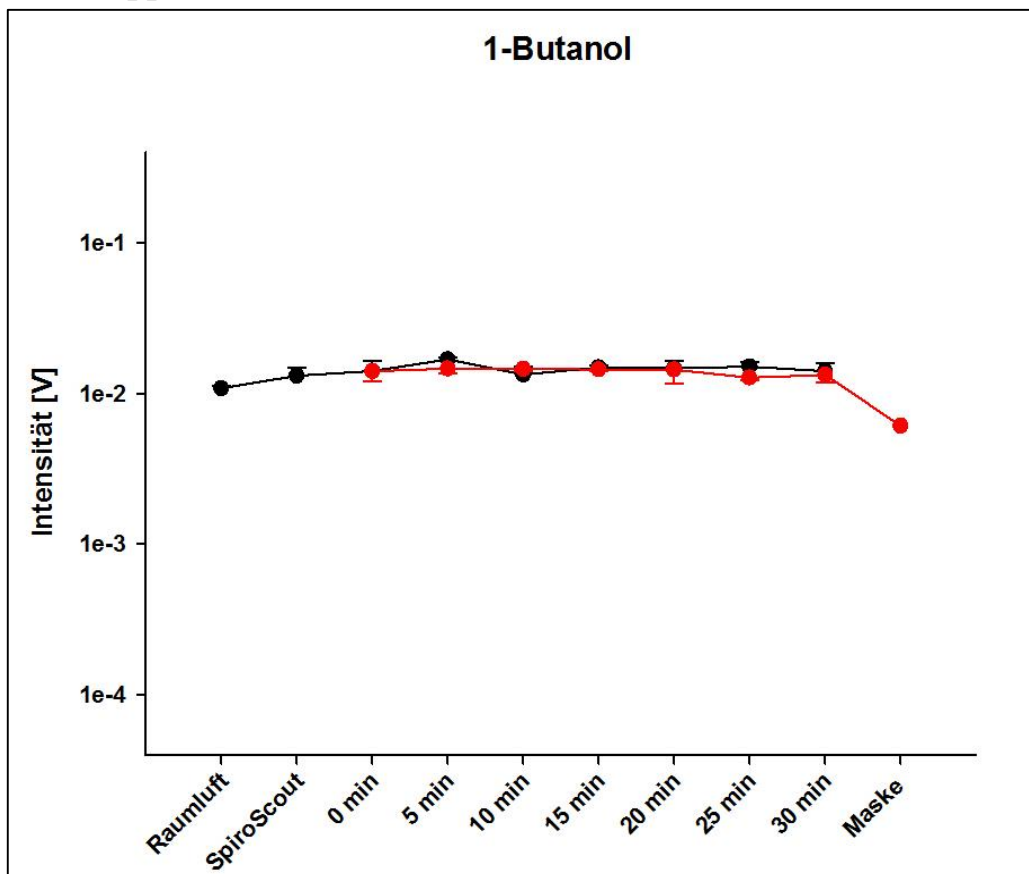


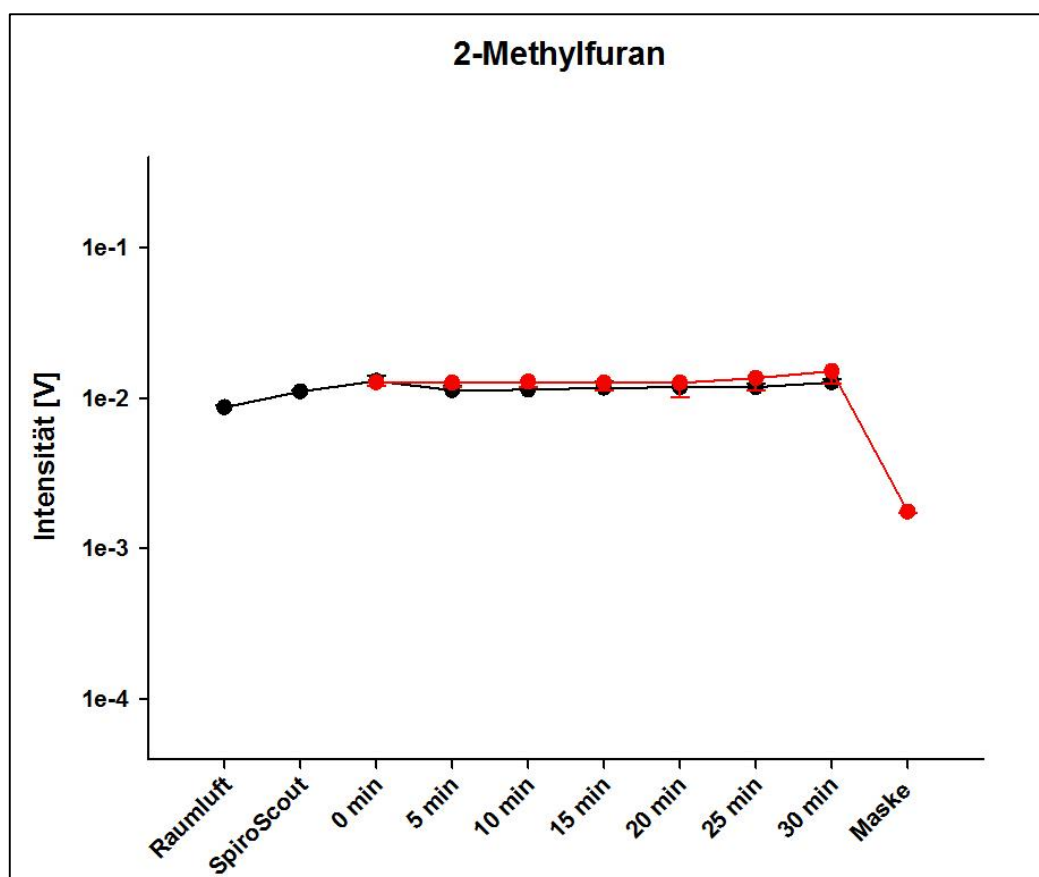
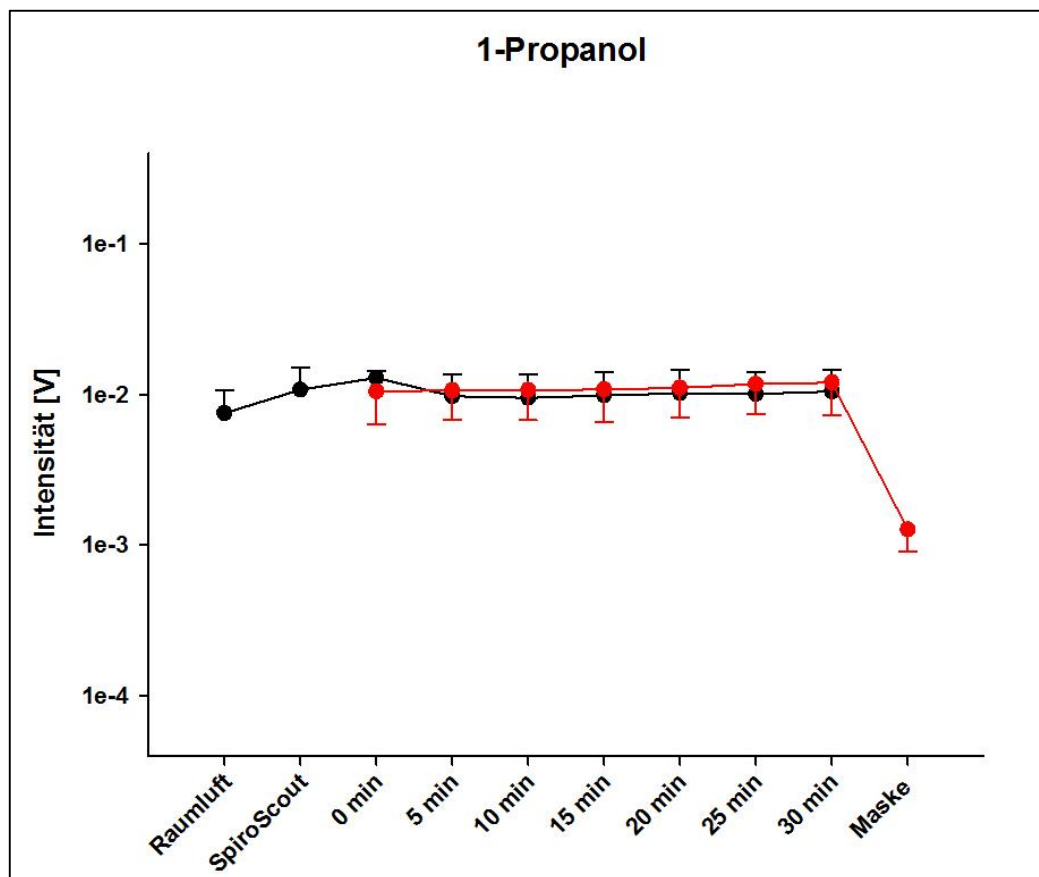


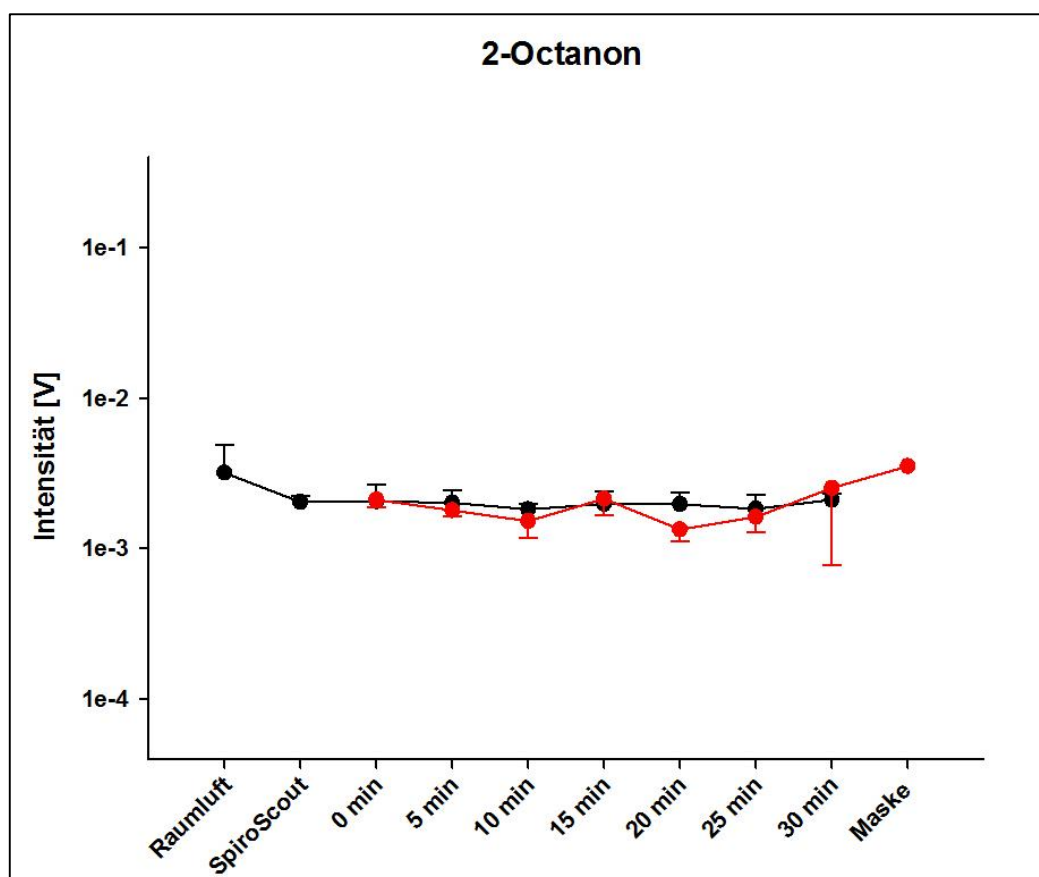
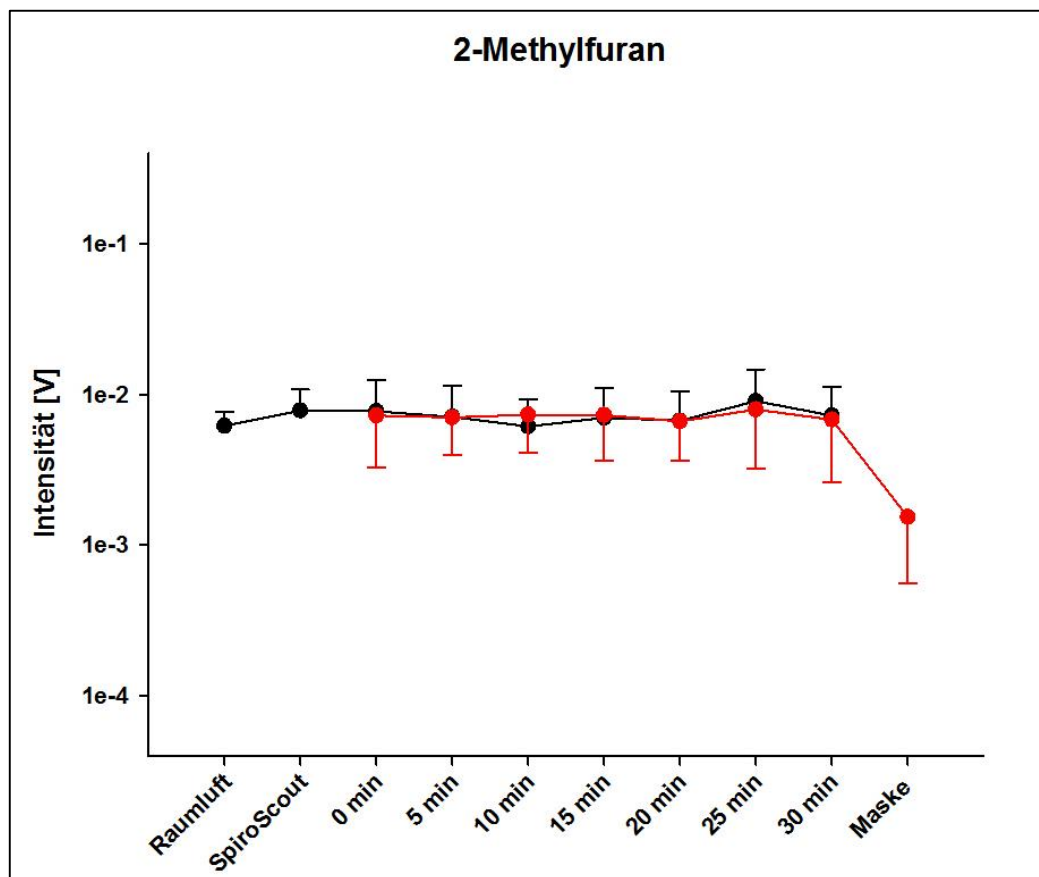


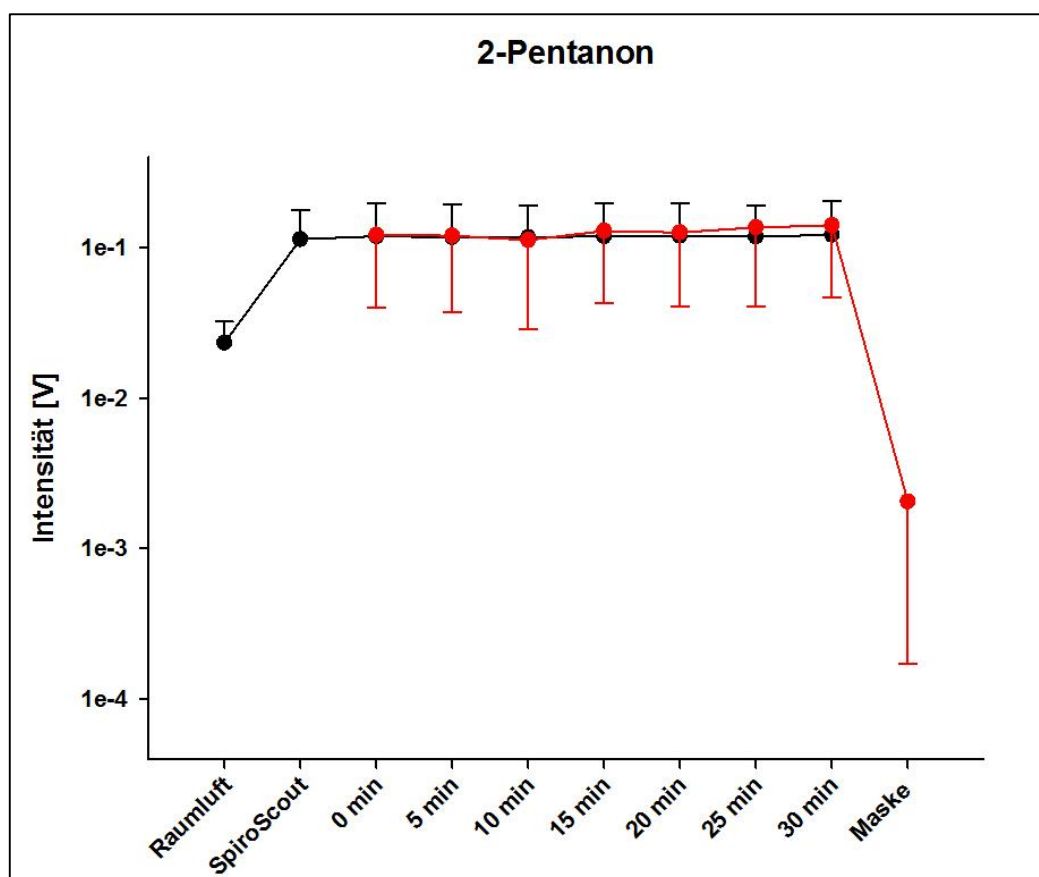
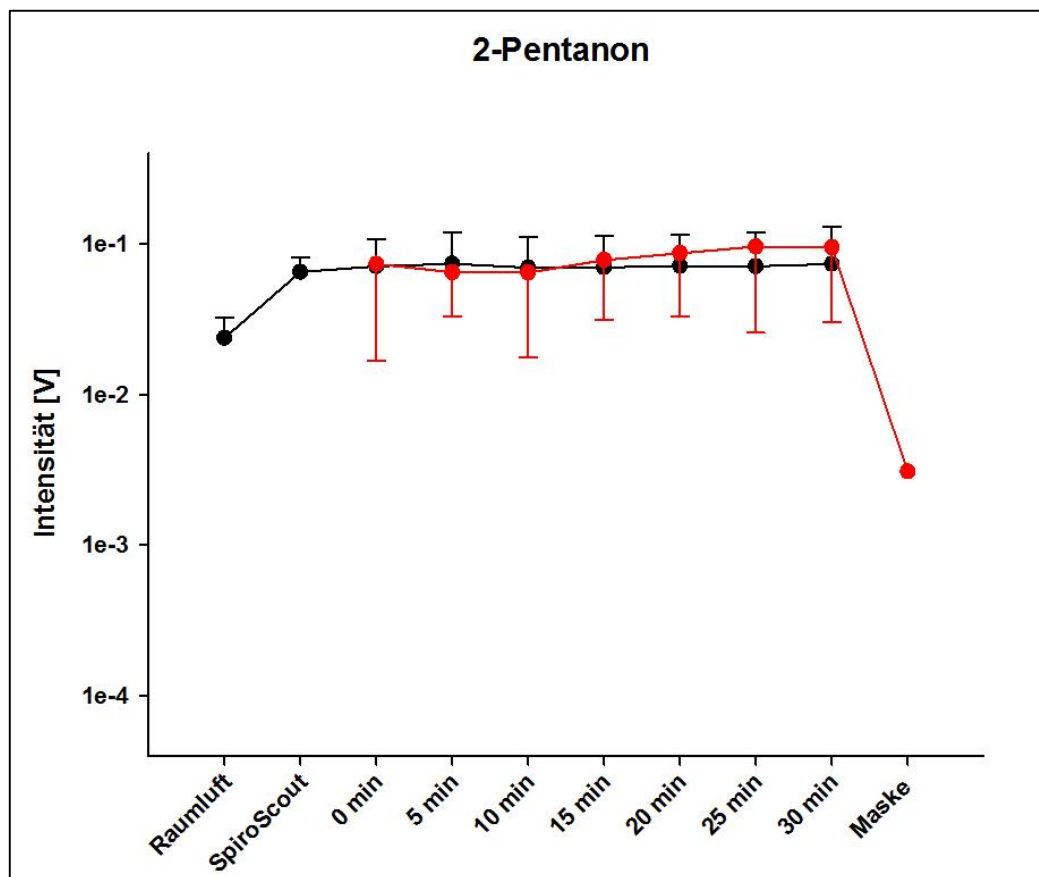


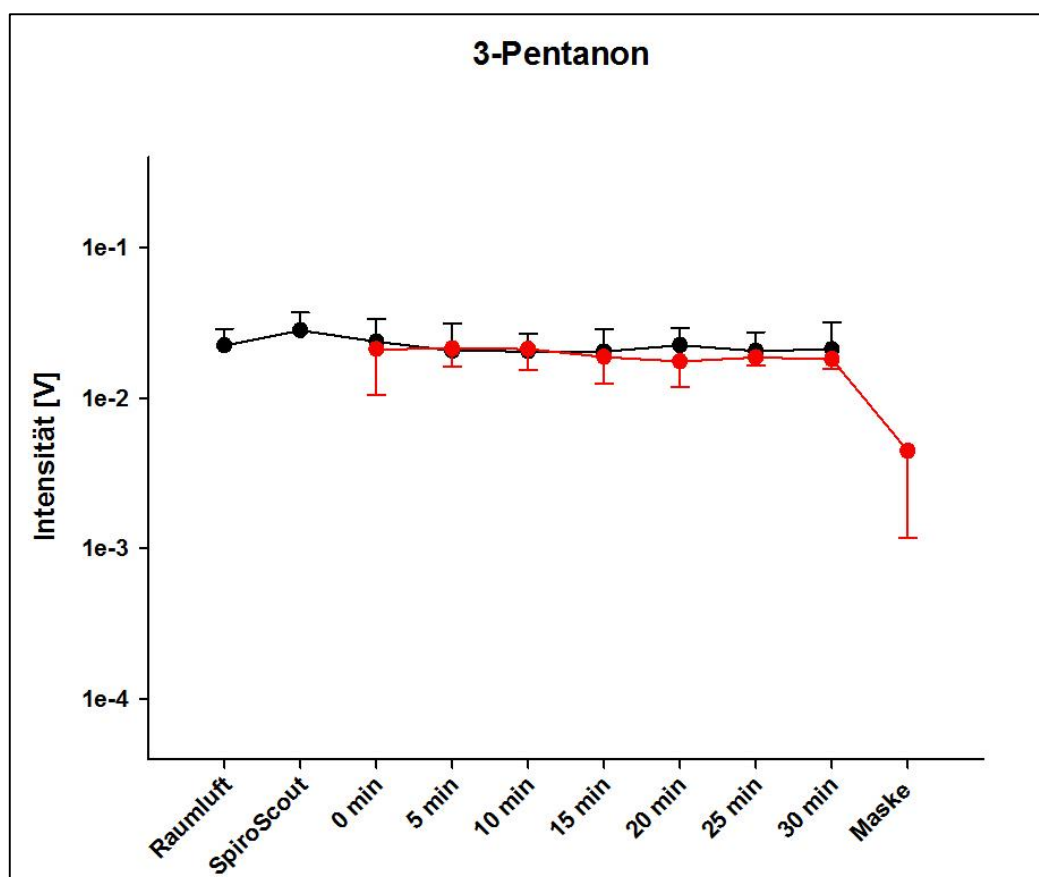
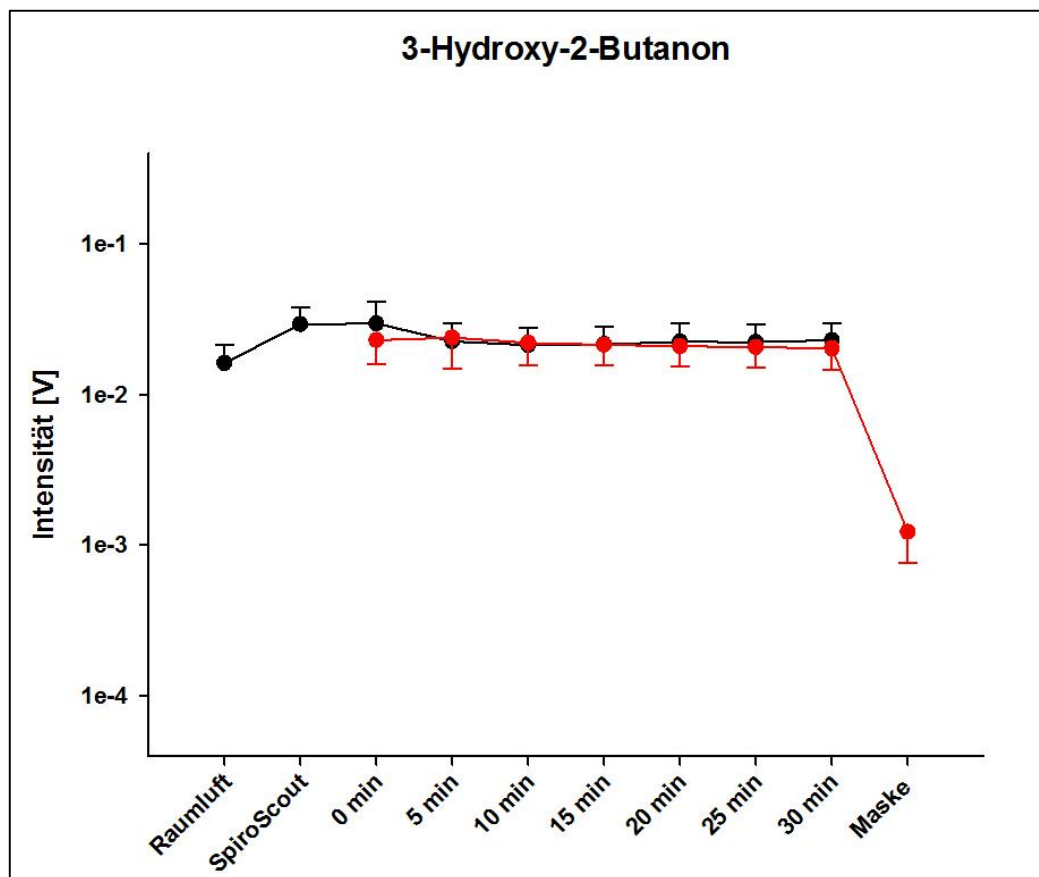
#### 9.4. Gruppe 4

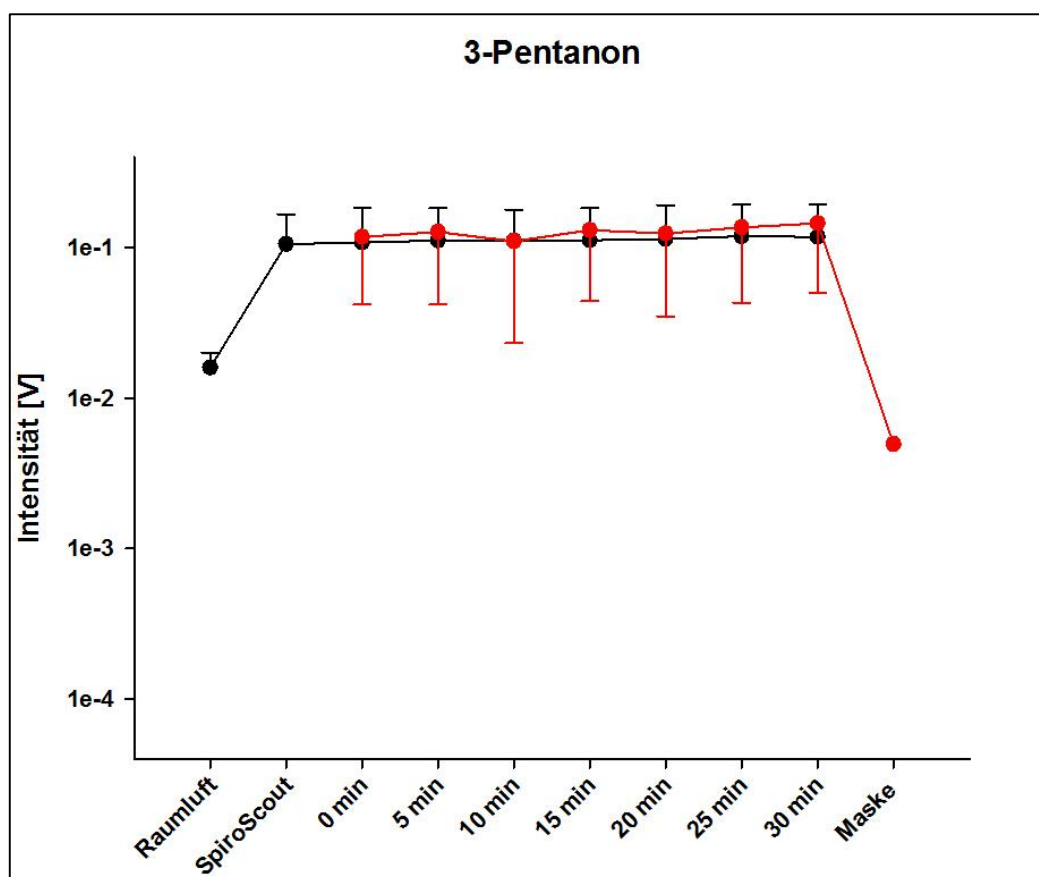
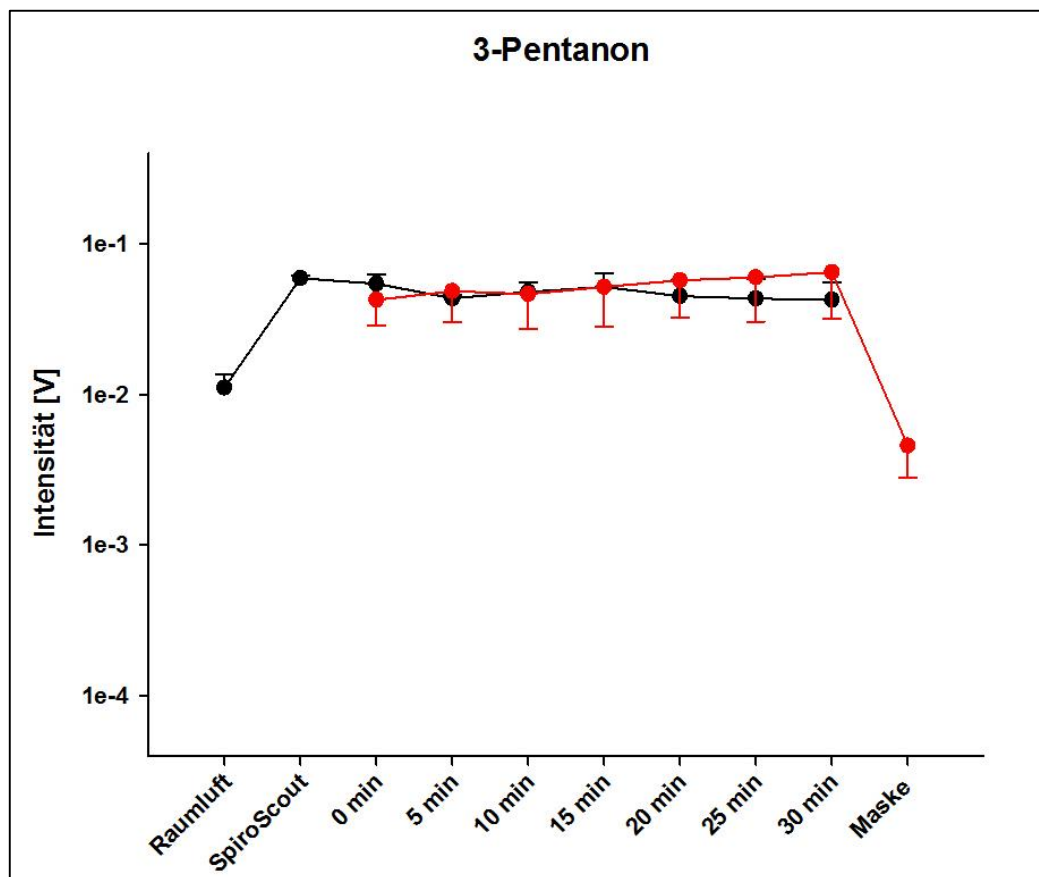




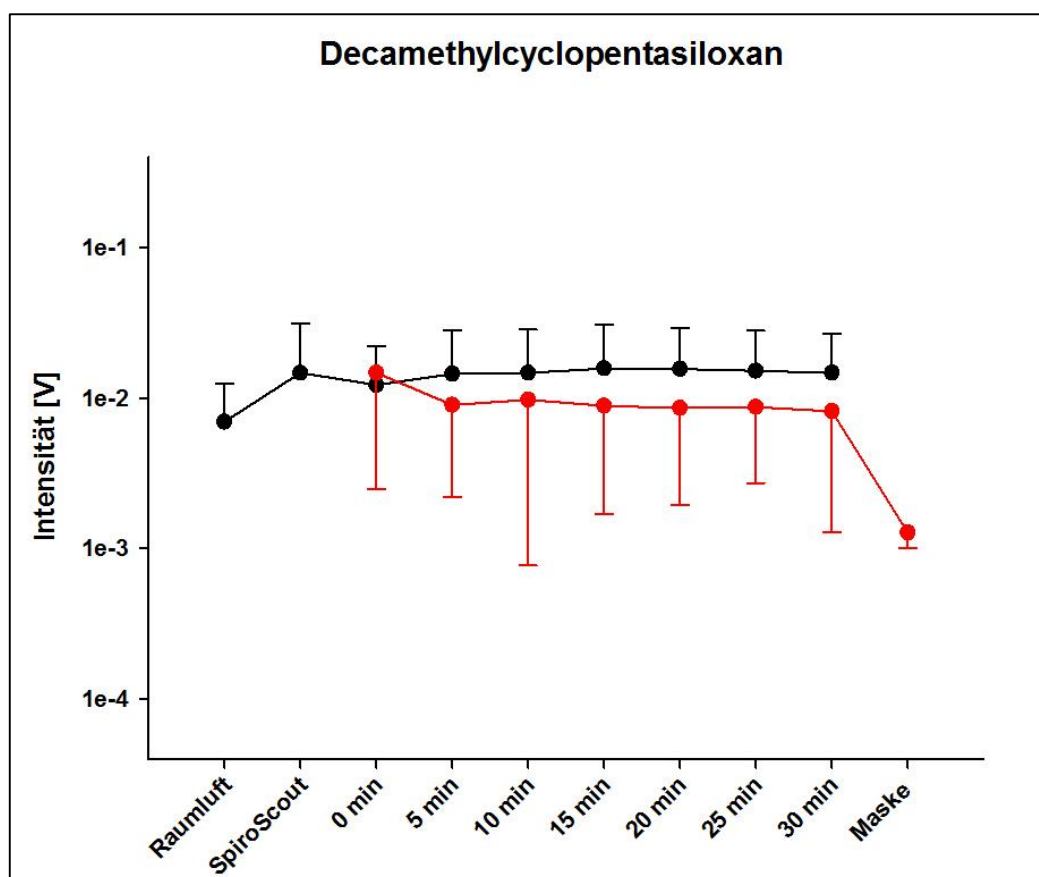
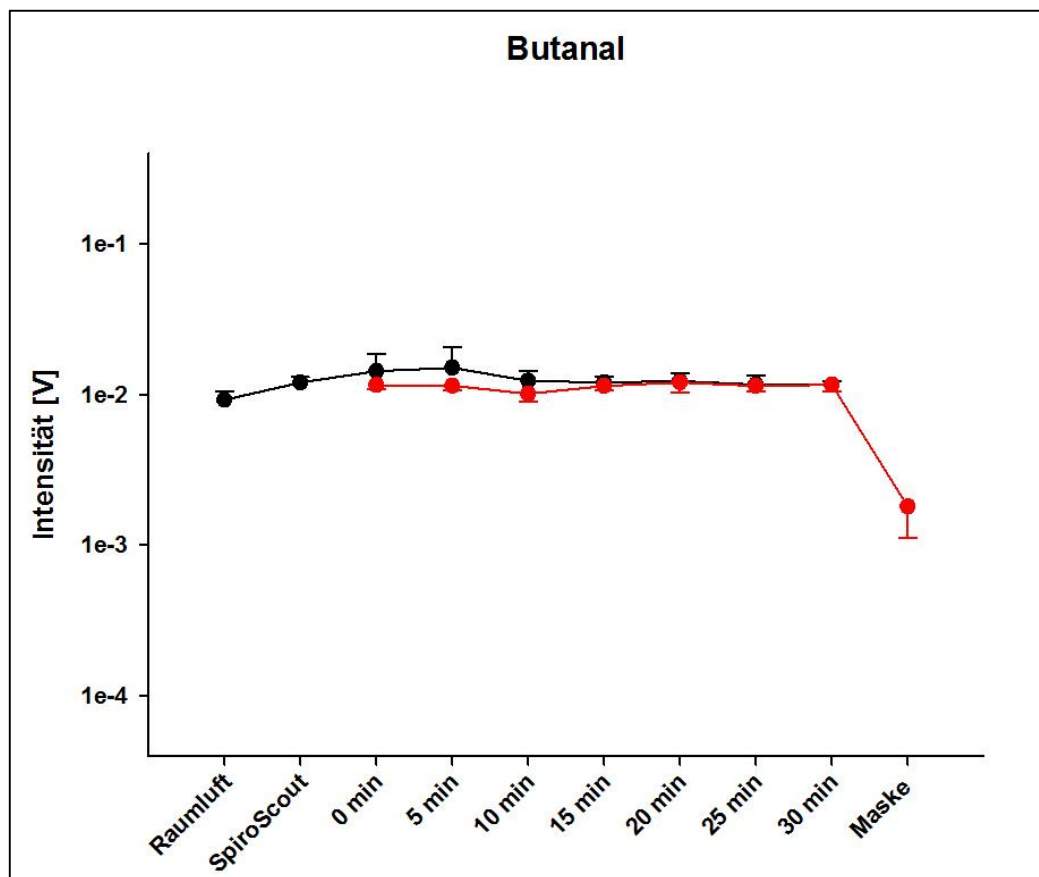


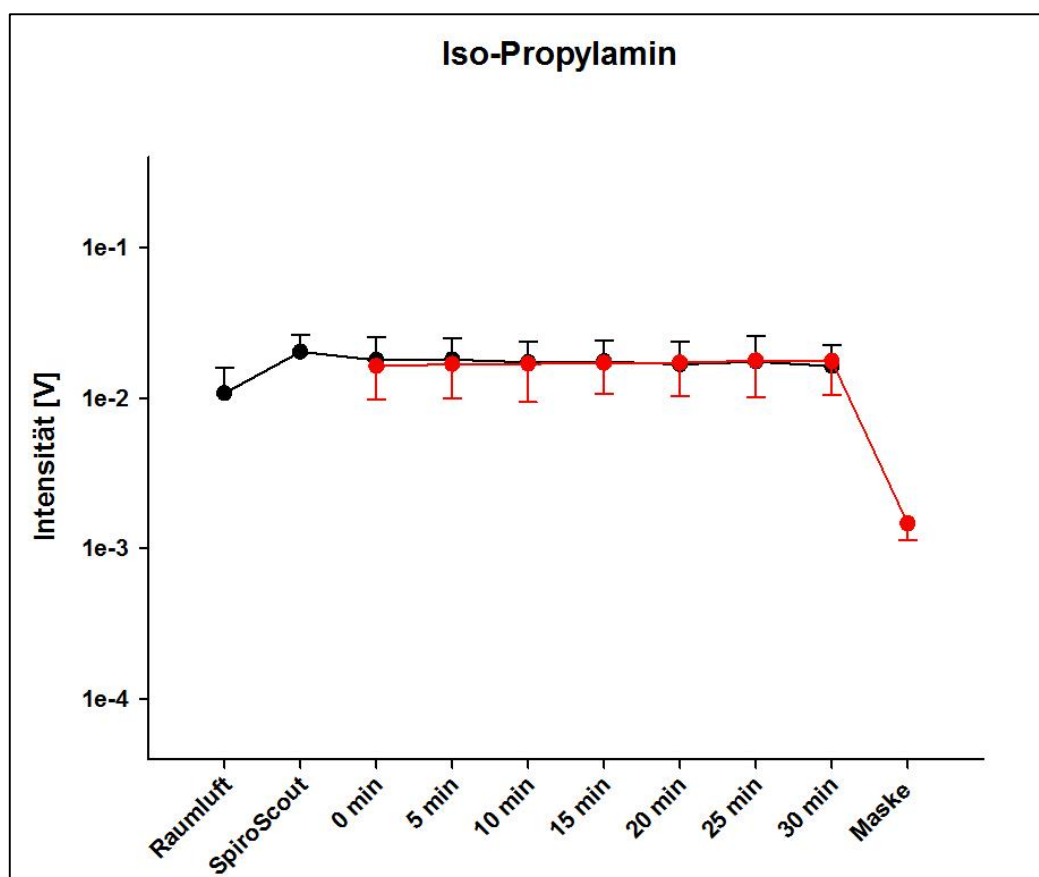
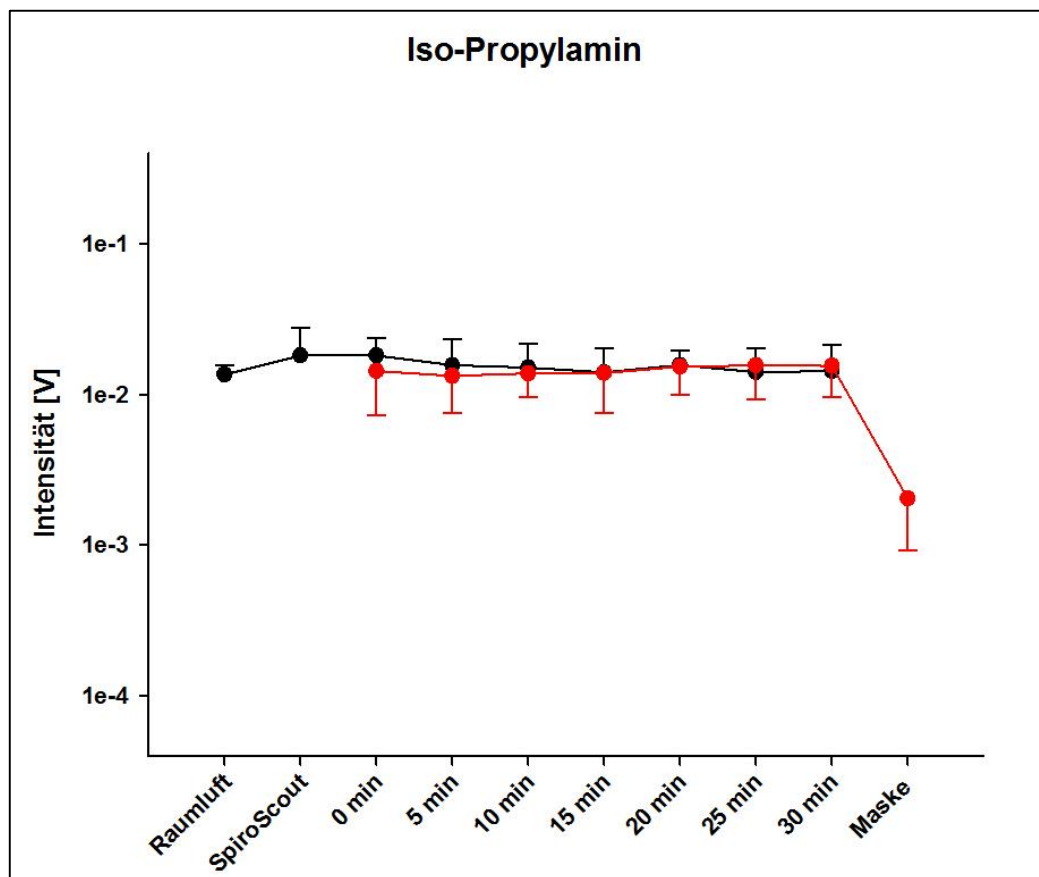


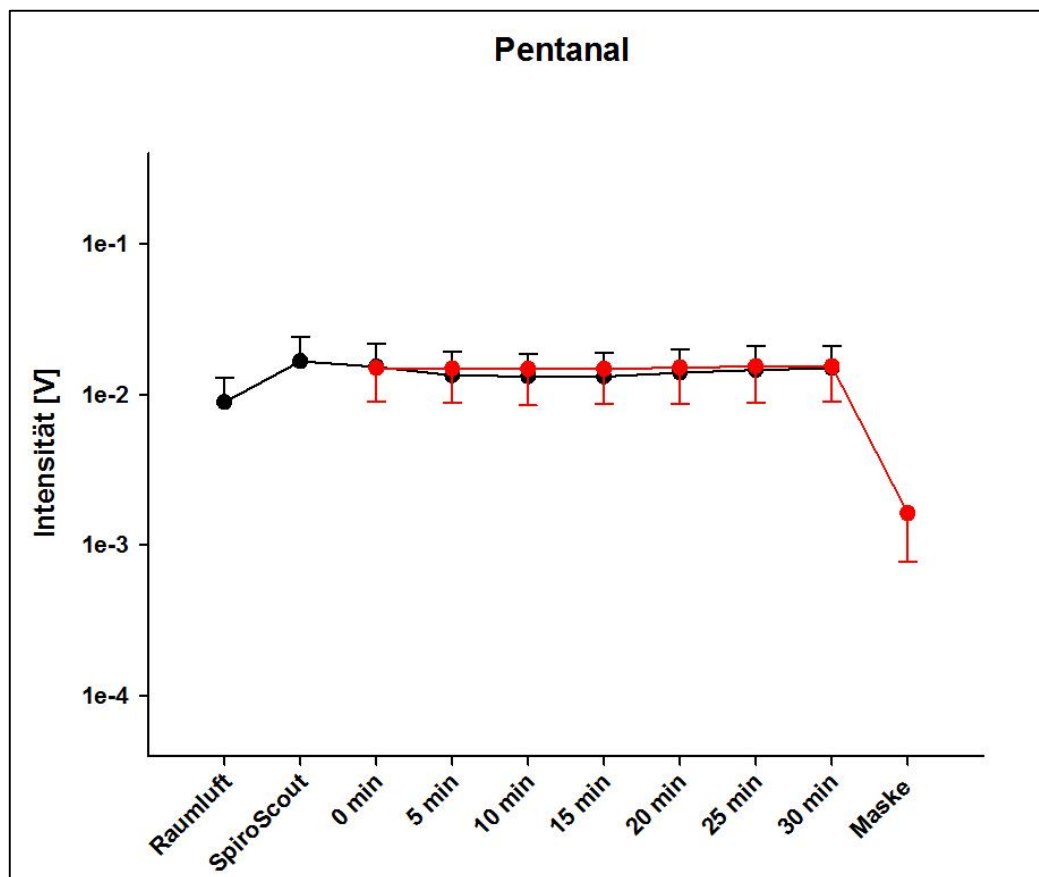




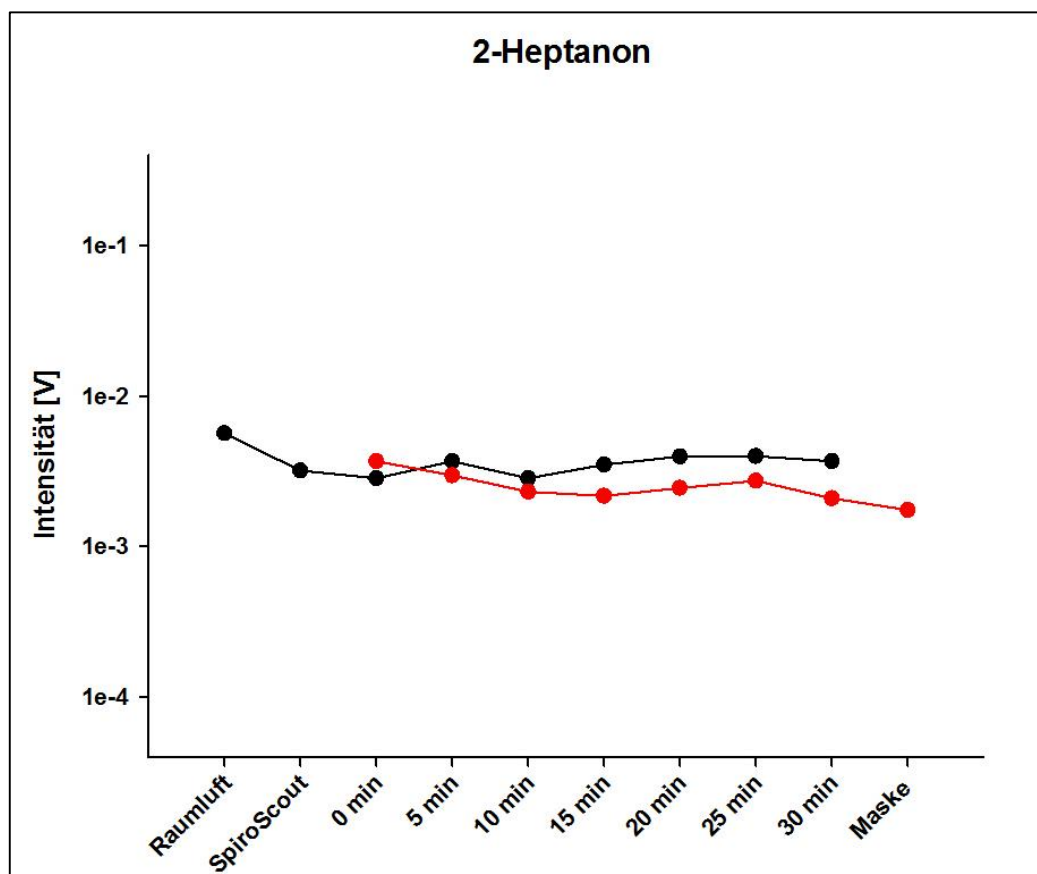
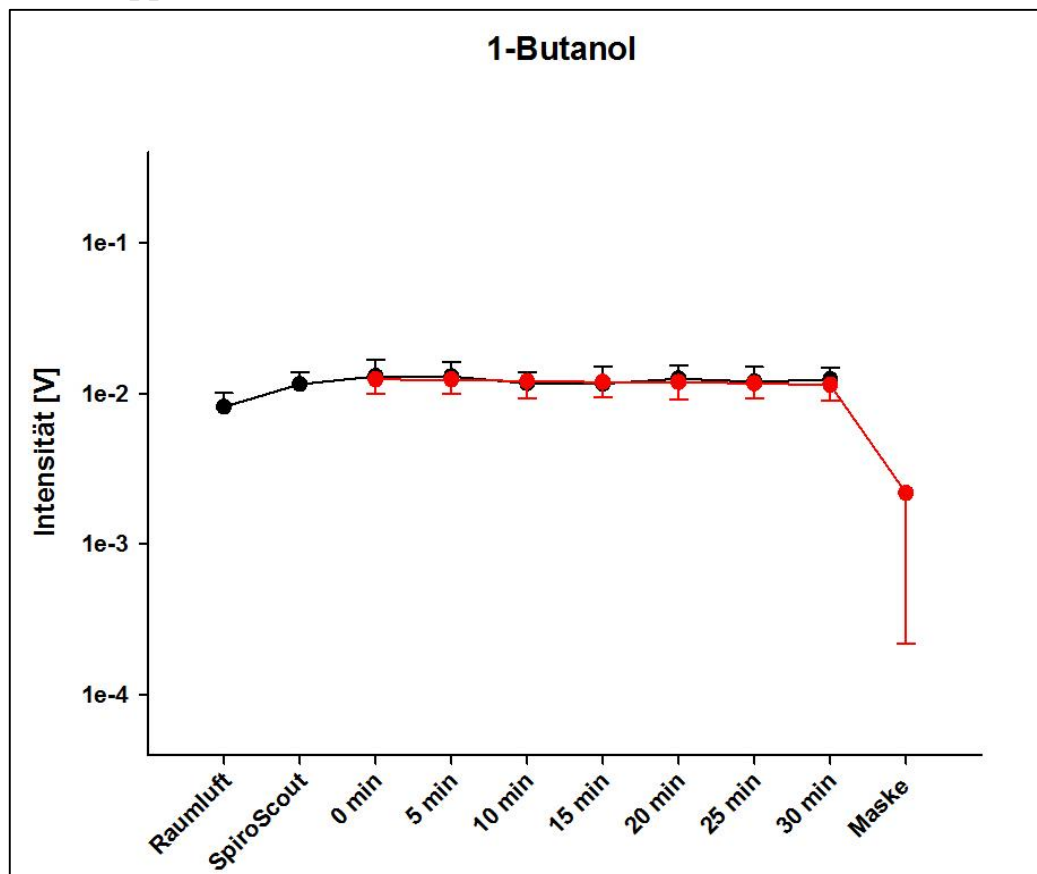


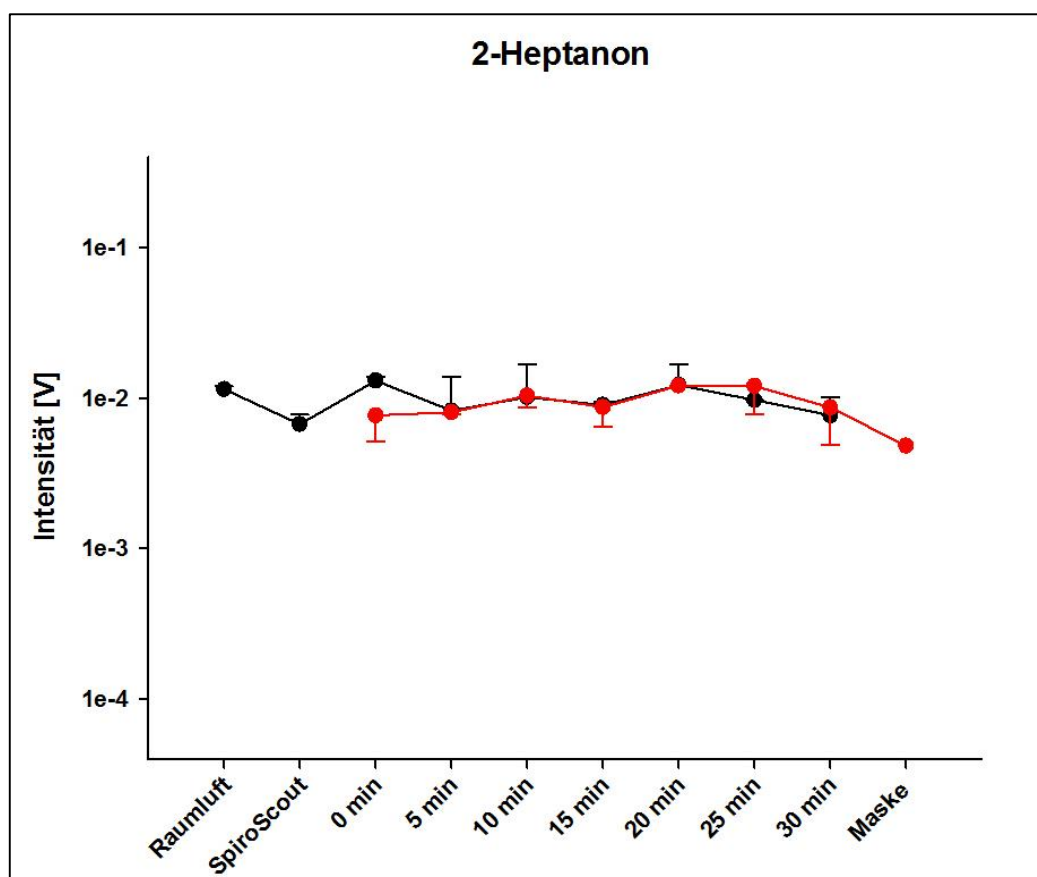
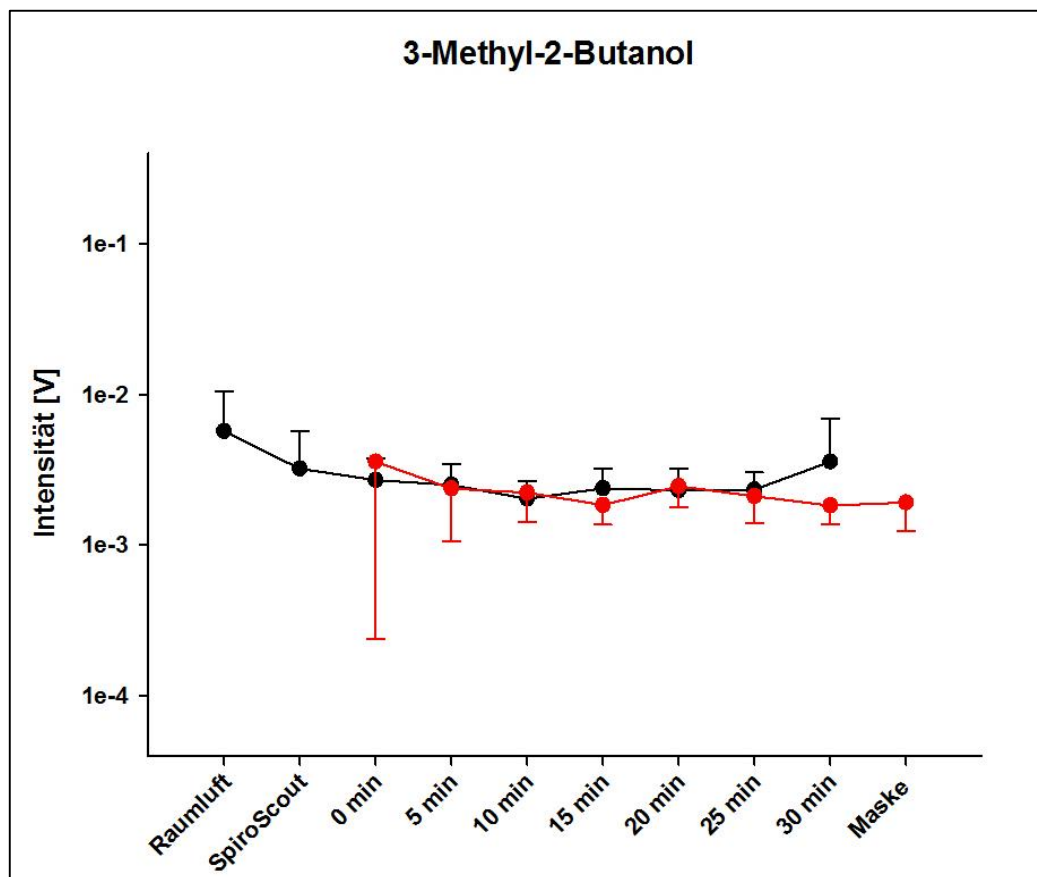


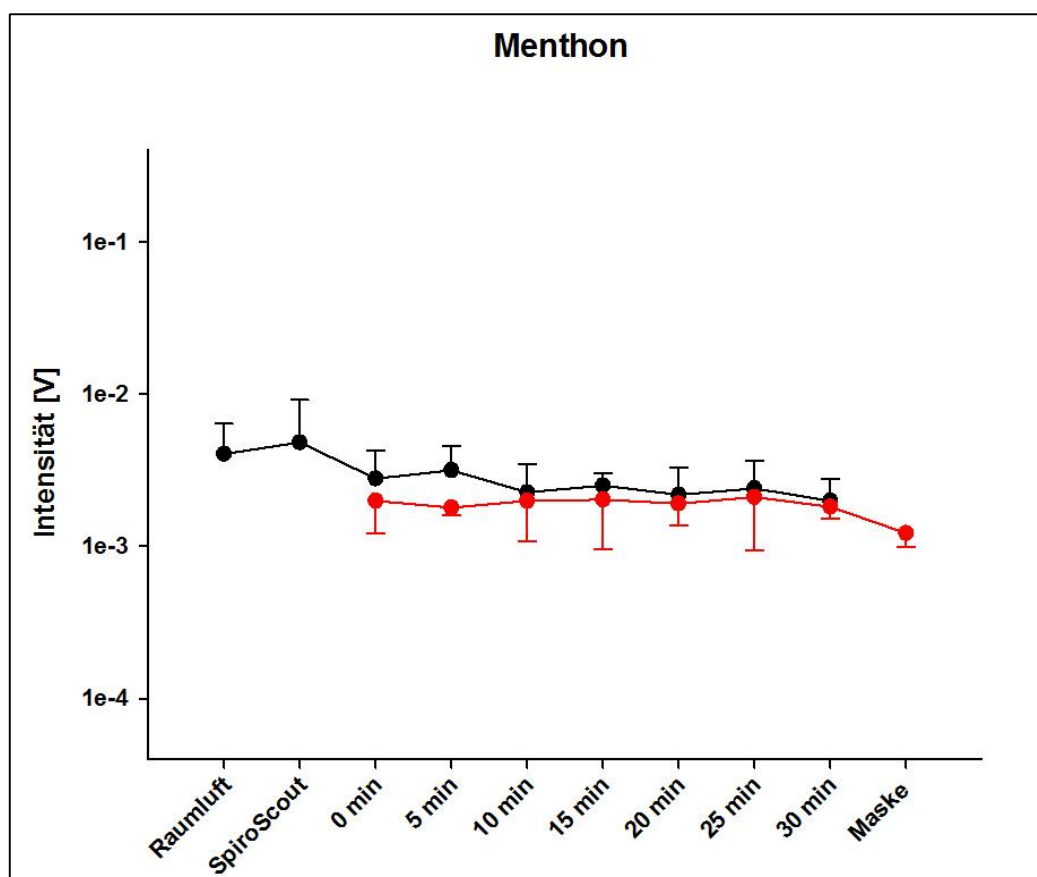
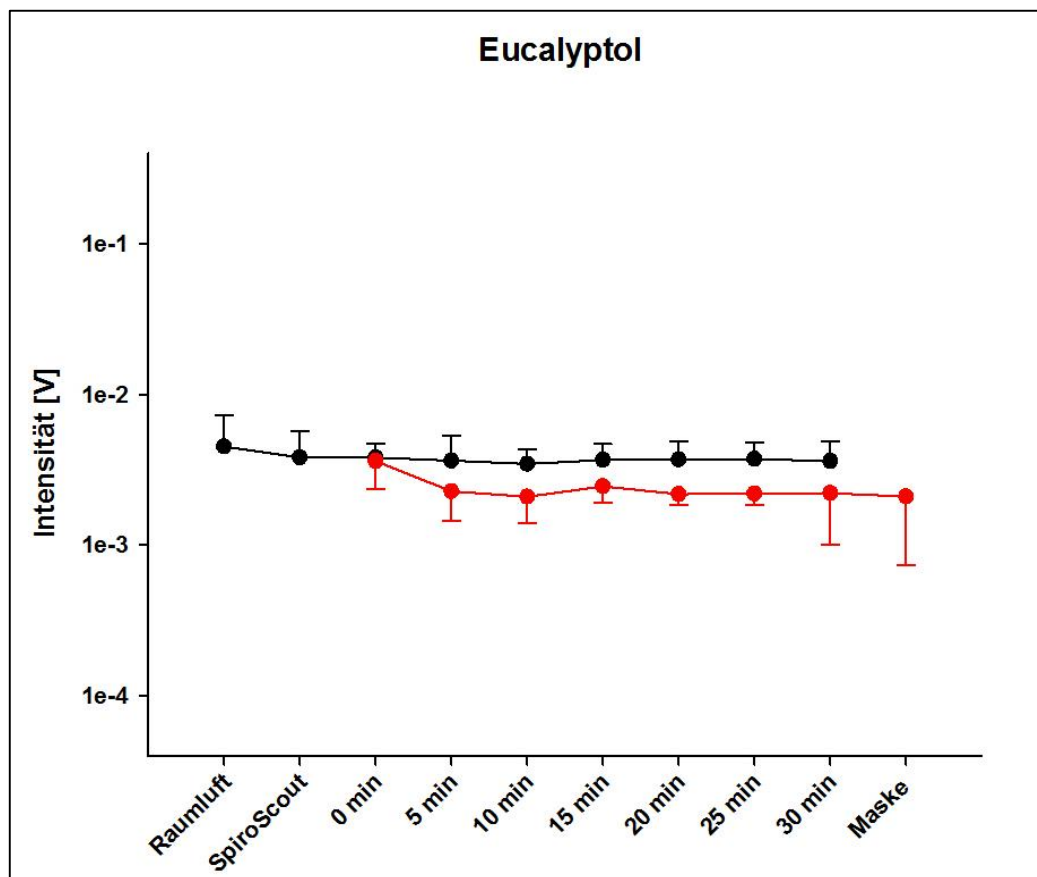


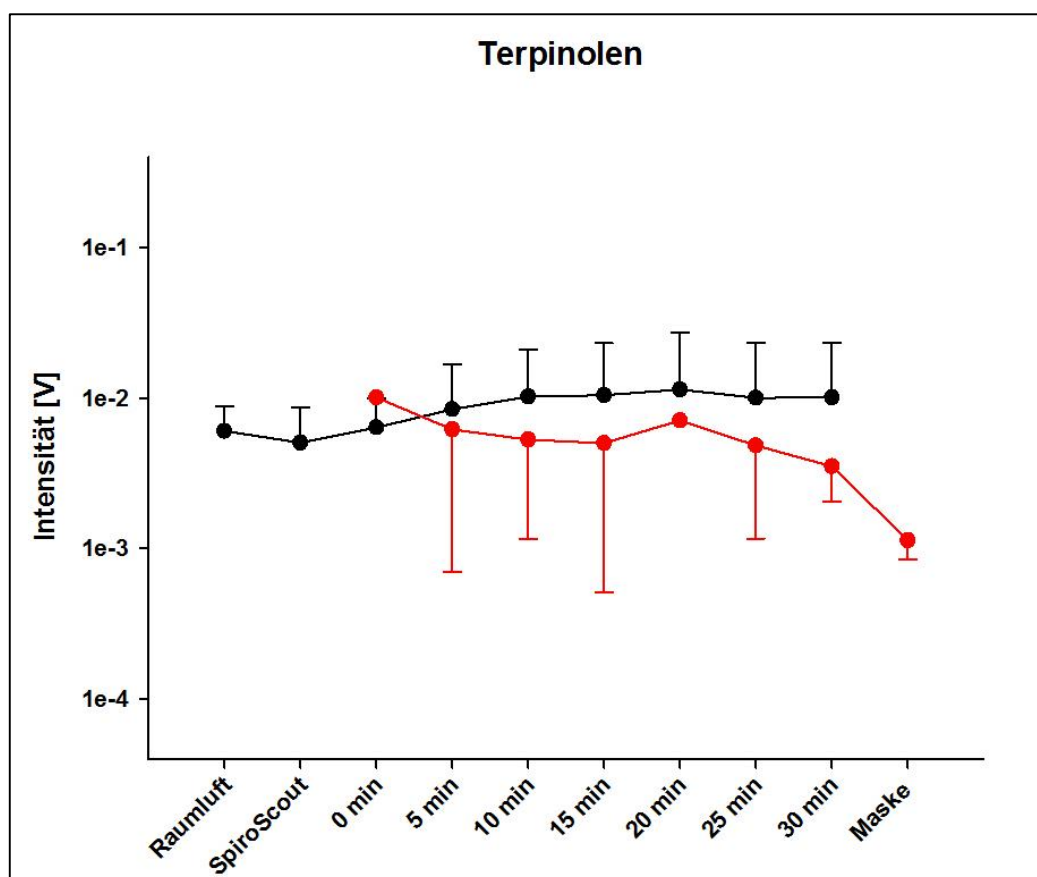
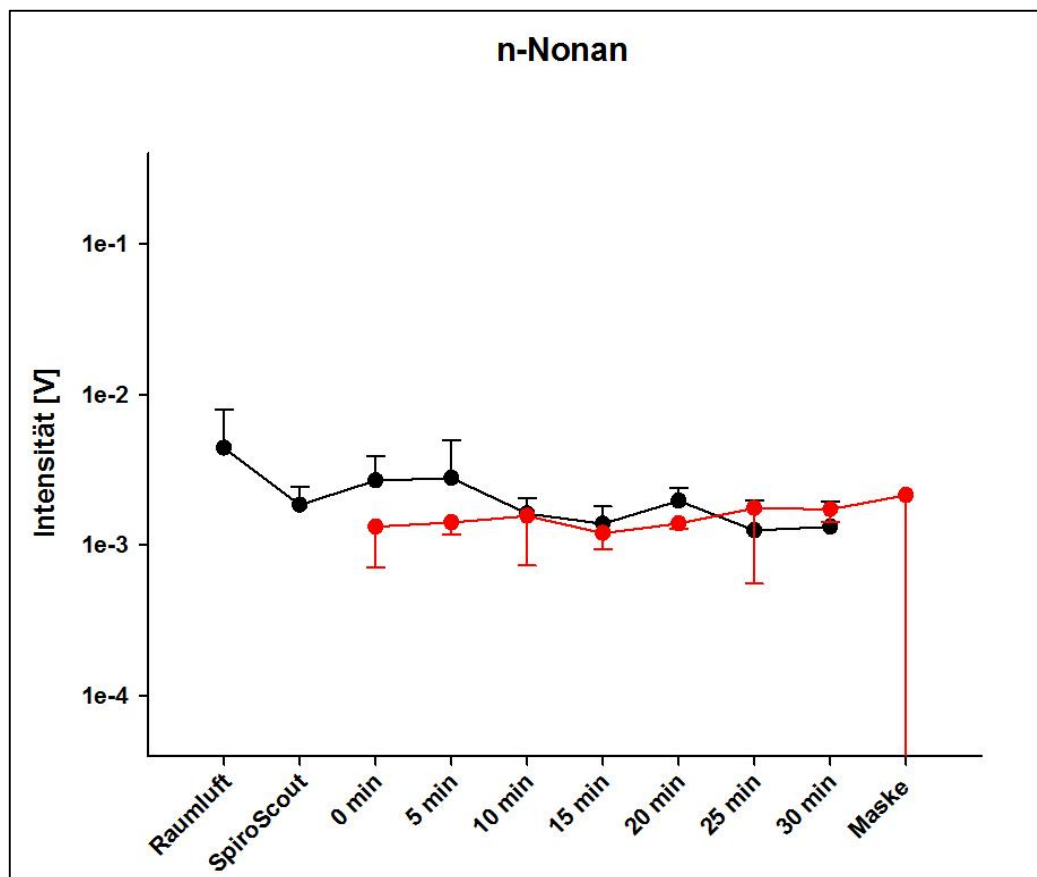


## 9.5. Gruppe 5









## 9.6. nicht zuordbare Peaks

